

Aus der Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie

Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Mittlmeier

**Knochenmikroarchitektur, Fibroblast Growth Factor-23 und Sclerostin
bei Patienten mit osteoporotischer Fraktur:
Ein Vergleich zwischen pertrochantärer und Schenkelhalsfraktur**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von:

Norina Annette Cornelius, geb. am 23.07.1986 in Brandenburg an der Havel

aus Potsdam

Rostock, März 2016

Dekan: Prof. Dr. Emil C. Reisinger

1. Gutacher: Prof. Dr.med. T. Mittlmeier

Abteilung für Unfall- Hand- und Wiederherstellungschirurgie Universitätsmedizin Rostock

2. Gutachter: PD Dr. rer. nat. D.-C. Fischer

Kinder- und Jugendklinik Universitätsmedizin Rostock

3. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Martin Tingart

Klinik für Orthopädie Uniklinik Aachen

Tag der Verteidigung: 28.02.2017

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Aufbau und Mikroarchitektur des humanen Knochens	1
1.2	Osteoporose	2
1.3	Der Knochen als endokrines Organ	3
1.3.1	FGF-23 als Regulator der Phosphathomöostase	4
1.3.2	Sclerostin als Regulator der skelettalen Homöostase	7
2	Ziel der Arbeit	10
3	Material und Methoden	11
3.1	Studiendesign und Probanden	11
3.2	Durchführung	12
3.2.1	Ermittlung der flächenbezogenen Knochendichte (aBMD)	12
3.2.2	Ermittlung der individuellen Körperzusammensetzung	12
3.2.3	Gewinnung und Analyse der Blut- und Urinproben	13
3.2.4	Gewinnung und Asservierung der Knochenproben	14
3.2.5	Analyse der Knochenproben mit hochauflösender Mikrocomputertomographie (μ CT)	15
3.2.6	Statistik	16
4	Ergebnisse	17
4.1	Anthropomorphische und klinische Daten der Patienten	17
4.2	Nierenfunktion, Calcium-, Phosphat- und Hormonhaushalt zum Zeitpunkt t2	20
4.3	Ergebnisse der DXA-Messung	21
4.4	Untersuchung der Knochenmikroarchitektur und Bestimmung der volumetrische Knochendichte im μ CT	22
4.5	Die Serumspiegel von cFGF-23 und Sclerostin	24
5	Diskussion	27
5.1	Grenzen der vorliegenden Arbeit	28
6	Zusammenfassung	30
7	Literaturverzeichnis	32
8	Thesen	35
9	Danksagung	36
11	Eidesstattliche Erklärung	37

Verzeichnis der Abkürzungen

aBMD	arealBone Mineral Density (flächenbezogene Mineraldichte im Knochen)
BV/TV	prozentualer Anteil des Knochen- zum Gesamtvolumen des Gewebes
CKD	Chronic Kidney Disease (chronische Niereninsuffizienz)
ConnD	der Grad der intertrabekulären Verknüpfung in Bezug auf das Gewebevolumen
DA	Grad der Anisotropie
DXA	dual energy X-rayabsorptiometry
eGFR	estimated glomerular filtration rate
FGF-23	Fibroblast Growth Factor-23 (cFGF-23; C-terminales Fragment)
FGFR	Fibroblast Growth Factor Receptor
μCT	Mikro-Computertomografie
PTH	Parathormon
PTHR	Parathormon Rezeptor
sHPT	sekundärer Hyperparathyreoidismus
TbN	Anzahl der Trabekel pro Einheitslänge
TbSp	gemittelte Entfernung zwischen den erfassten Trabekeln
TbTh	durchschnittliche Dicke der erfassten Trabekel
vBMD	volumenbezogene Knochendichte
VDRE	Vitamin D Responsive Element

Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1: *Die Knochen-Nieren-Nebenschilddrüsen-Achse und ihre Hormone (Dusso and Rodriguez 2012)*

Abb. 2: *Der Einfluss von FGF-23 auf den Phosphathaushalt (Emmett 2008)*

Abb. 3: *Regulation und Effekte von FGF-23 (Kovesdy 2014)*

Abb. 4: *Signaltransduktion zwischen Osteozyt, Osteoblast und Osteoklast*

Abb. 5 *Prä- und postoperative Röntgenbilder einer Patientin mit Schenkelhalsfraktur (A, C) und pertrochantärer Fraktur (B, D).*

Abb. 6: *Zusammenhang zwischen Alter und Körpergröße*

Abb. 7: *Prävalenz der Niereninsuffizienz nach KDIGO-Stadien, Art der Fraktur und Geschlecht.*

Abb. 8: *Rekonstruktionen nach μ CT Untersuchung von gesundem (links) und osteoporotisch (rechts) verändertem humanem Femur.*

Abb.9: *Die Konzentrationen von cFGF-23 und Sclerostin zu den einzelnen Zeitpunkten bei allen Patienten (a, b) und nach Aufteilung in Frakturtypen (c, d).*

Abb.10: *Zusammenhang zwischen Nierenfunktion bzw. Alter und cFGF-23 (obere Reihe) und Sclerostin (untere Reihe).*

Verzeichnis der Tabellen:

Tab. 1: : *Schematische Darstellung des Studienablaufs*

Tab. 2: *Übersicht über die im Blut bestimmten Parameter*

Tab. 3: *Einstellungen des μ CT und der folgenden Schnittbildanalyse*

Tab. 4: *Anthropomorphische und klinische Charakteristika zum Zeitpunkt der Fraktur*

Tab 5: *Ausgesuchte Laborwerte am 1. postoperativen Tag (t_2)*

Tab. 6: *Ergebnisse der DXA-Messungen*

Tab. 7: *Ergebnisse der μ CT-Analyse*

1 Einleitung

1.1 Aufbau und Mikroarchitektur des humanen Knochens

Das menschliche Skelett ist ein hoch dynamisches Organsystem, das nicht nur mechanische sondern auch biochemische und hormonelle Funktionen erfüllt (Quarles 2011). Es ist die Grundlage für die Stabilität und Beweglichkeit des menschlichen Körpers, schützt die inneren Organe vor Verletzungen, dient als Reservoir für verschiedene Mineralien und beherbergt das blutbildende Knochenmark.

Die Röhrenknochen der Extremitäten wie bspw. der Femur, bestehen aus einer festen äußeren Hüllschicht, Kompakta oder Kortikalis genannt und einem innen liegenden, aus feinen Knochenbälkchen bestehenden, Trabekelwerk, der Spongiosa. Die Kompakta macht 80% des Skelettvolumens aus (Seeman ; Seeman 2013). Die Knochenhaut, das Periost, besteht aus zwei Schichten, dem äußeren Stratum fibrosum und dem inneren Stratum osteogenicum und umhüllt den Knochen in den nicht knorpeligen Bereichen. Das Periost führt die wichtigen blutversorgenden Gefäße und enthält, im Gegensatz zum Knochen selbst, auch Nozizeptoren. Das Stratum fibrosum dient der Verankerung im Knochen und besteht vor allem aus kollagenen und elastischen Fasern, sowie wenigen länglichen Fibrozyten. Das innere Stratum osteogenicum liegt der Kortikalis direkt auf. Es ist zellreich und bindegewebsarm. Neben sympathischem Nervengewebe und kleinsten Gefäßen enthält es Fibroblasten, Perizyten und mesenchymale Stammzellen sowie Osteoblasten und ihre Vorläuferzellen, die Osteoprogenitorzellen (Squier, Ghoneim et al. 1990; Allen, Hock et al. 2004). Im Alter verringern sich die Höhe des Periosts und die Zellzahl im Stratum osteogenicum. Dementsprechend ist auch die Regenerationsfähigkeit des Knochens herabgesetzt (Allen, Hock et al. 2004).

Die Kortikalis besteht zu 70% aus mineralisierter Knochenmatrix, zu 30% aus den mit Flüssigkeit gefüllten Havers- und Volkmannkanälen (Techawiboonwong, Song et al. 2008). Ihre kleinste Einheit ist das Osteon, in dessen Mitte sich ein Haverskanal befindet, der die versorgenden Gefäße führt und von konzentrisch angeordneten Knochenlamellen umgeben wird. In den faserärmeren Zwischenräumen der Lamellen befinden sich, in Lakunen eingebettet, die Osteozyten, deren Ausläufer über Canaliculi sowohl mit dem Haverskanal als auch untereinander dreidimensional vernetzt sind. Eine dünne, kollagenfreie Schicht begrenzt ein einzelnes Osteon, untereinander werden sie durch interstitielle Lamellen getrennt, stehen aber durch Volkmannkanäle in Kontakt (Lüllmann-Rauch 2015). Die Spongiosa ist ein schwammartiges Netz aus Knochentrabekeln und bildet den inneren Markraum. Die innen liegenden Zellen werden durch die Gefäße des Knochenmarks versorgt.

1.2 Osteoporose

Die derzeit international gültige Definition für Osteoporose lautet:

„Die Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine mikroarchitektonische Verschlechterung des Knochengewebes charakterisiert ist, mit einem konsekutiven Anstieg der Knochenfragilität und der Neigung zu Frakturen. Sind bereits Frakturen als Folge der Osteoporose aufgetreten, liegt eine manifeste Osteoporose vor.“

Laut WHO ist das derzeit einzig gültige Diagnosekriterium ein durch DXA gemessener T-score < - 2,5 (1993; 1994)(s.u.).

Der Dachverband für Osteologie e.V. gibt für postmenopausale Frauen im Alter von 55 Jahren eine Prävalenz von 7% an, im Alter von 80 Jahren liegt sie bei 19%.

Patienten mit Osteoporose erleiden häufig und zudem wiederholt Frakturen. In einer retrospektiven Studie konnte gezeigt werden, dass in Deutschland innerhalb von 5 Jahren, 69% der Patienten mit osteoporotischen Frakturen zum einen multiple Frakturen erlitten und zum anderen, therapieabhängig, eine Refrakturnrate bis zu 89% aufwiesen (Hadjj, Klein et al. 2013). Der Anteil der durch Osteoporose verursachten Frakturen an den Gesamtkosten der stationären Frakturversorgung in Deutschland lag für das Jahr 2009 bei 36% und entsprach 860 Millionen Euro (Bleibler, Benzinger et al. 2014).

Für die Zukunft wird eine weitere Verschlimmerung der Situation vorhergesagt. Ausgehend von 115.248 osteoporoseassoziierten Frakturen in 2010, werden für das Jahr 2050 mehr als 273.000 Frakturen prognostiziert. Damit ist ein Kostenanstieg von 1 Milliarde Euro für 2010 auf 6,1 Milliarden Euro im Jahr 2050 verbunden. Im Zeitraum zwischen 2010 und 2050 soll das Gesundheitswesen dann bei insgesamt etwa 8,1 Millionen Frakturen mit etwa 88,5 Milliarden Euro belastet worden sein (Bleibler, Konnopka et al. 2013).

Osteoporose ist als Volkskrankheit nicht nur ein soziales sondern auch gesundheitsökonomisch hoch relevantes Thema. Ihre genaue Erforschung und die Entwicklung suffizienter Konzepte zu Therapie und Prävention genießen aktuell hohe wissenschaftliche Aufmerksamkeit.

1.3 Der Knochen als endokrines Organ

Biochemische Parameter, mit deren Hilfe sich Aussagen über den Status von skelettaler Aktivität treffen lassen, gewinnen zusehends an klinischer Bedeutung. Sie sind Marker für systemische und knochen-zelleigene hormonelle Kreisläufe.

Es zeigte sich, dass insbesondere Osteozyten bei der Regulation der Knochenhomöostase eine zentrale Rolle spielen. Unter anderem produzieren sie Proteine wie den Fibroblasten Wachstumsfaktor-23 (FGF-23) und Sclerostin, die an der Kontrolle des Calcium- und Phosphatstoffwechsels und des Knochenremodellings beteiligt sind (Martin, David et al. 2012). FGF-23, Klotho, Parathormon (PTH) und 1,23-Dihydroxy-Vitamin-D (Calcitriol) bilden gemeinsam die "Knochen- -Nieren-Nebenschilddrüsen - Achse" (Abb. 1) und regulieren den Calcium- und Phosphathaushalt des menschlichen Körpers (Liu, Tang et al. 2006; Razzaque 2009).

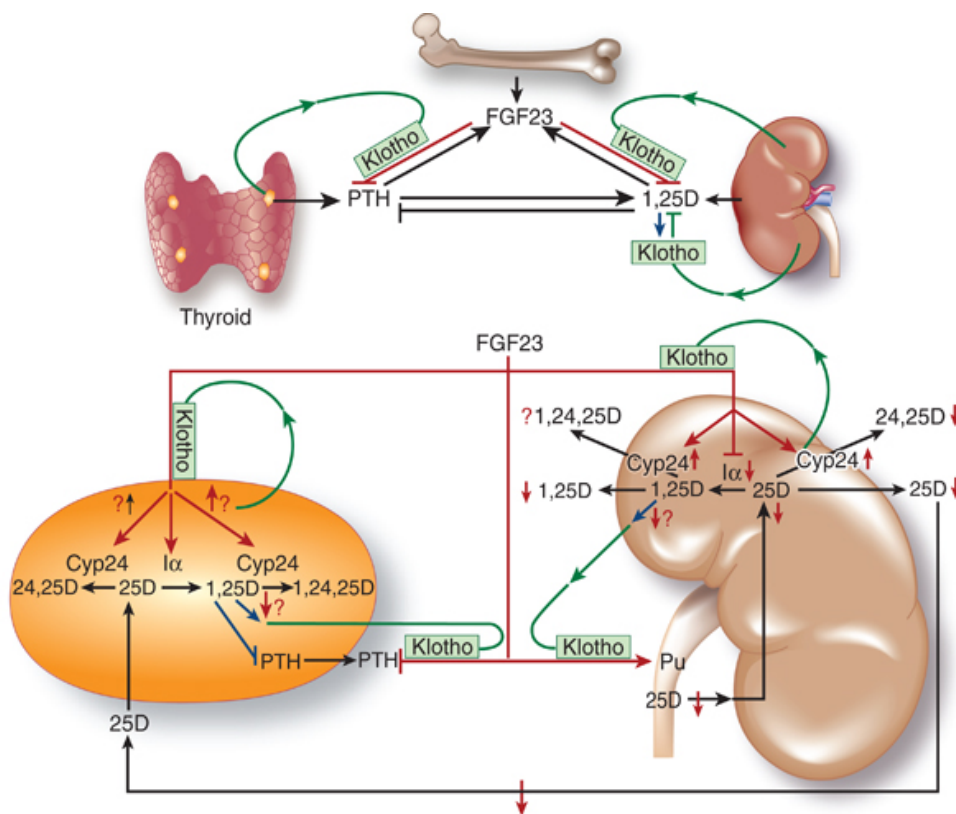


Abb. 1: Die Knochen-Nieren-Nebenschilddrüsen-Achse und ihre Hormone (Dusso and Rodriguez 2012)

1.3.1 FGF-23 als Regulator der Phosphathomöostase

Phosphor ist ein für den menschlichen Organismus essentielles Element. Es ist in Form von Phosphat am Energiestoffwechsel beteiligt, als intrazelluläres Hauptanion mitverantwortlich für die Integrität des Membranpotentials und ein wichtiger Serumpuffer. Etwa 85% des im Organismus befindlichen Phosphats ist im Knochen als Hydroxylapatit gebunden. Lange wurde angenommen, dass die Aufnahme und Freisetzung von Phosphat im Wesentlichen von der Calciumhomöostase abhängt und somit von PTH und Vitamin D reguliert wird. Mit der Entdeckung von FGF-23, einem direkt phosphaturisch wirksamen Hormon, versteht man den Knochen zunehmend auch als endokrines Organ und Regulator des Elektrolythaushalts (Martin, David et al. 2012).

FGF-23 ist ein 32 kDa schweres und 251 Aminosäuren langes Protein, das vornehmlich in Osteozyten und Osteoblasten gebildet wird. Es gehört mit FGF-19 und FGF-21 zur Unterfamilie der endokrin wirksamen FGF. Ihnen allen ist eine Affinität zu einem der 4 Fibroblast Growth Factor Rezeptoren (FGFR, Typ 1 Transmembranphosphotyrosinkinase) gemein. FGF-Proteine benötigen in der Regel Heparansulfatglycosaminoglykane zur Signaltransduktion und sind u.a. an Embryogenese, Angiogenese, Wundheilung und Tumorwachstum beteiligt (Powers, McLeskey et al. 2000; Kovesdy 2014). Die heparinbindende Domäne des FGF-23 unterscheidet sich strukturell von denen der typischen Vertreter der FGF-Familie, sodass seine Affinität für die FGFR herabgesetzt wird. Als Cofaktor benötigt es das Protein alpha-Klotho (Martin, David et al. 2012).

Alpha-klotho wird nur in wenigen Geweben exprimiert; am häufigsten im distalen Tubulussystem der Niere und den Nebenschilddrüsen, in geringerem Ausmaß in Hypophyse, sinoatrialen Herzmuskelzellen, Plazenta, Skelettmuskel, Blase, Aorta, Hoden, Ovarien und Colon. Der Knochen selbst ist kein Effektororgan. Die Gewebsverteilung von alpha-Klotho ist für die spezifischen Effekte von FGF-23 verantwortlich (Liu and Quarles 2007; Martin, David et al. 2012).

Seine Hauptwirkung entfaltet FGF-23 an der Niere. Dort hemmt es die Expression der Typ-II-Natrium-Phosphat-Cotransporter NaPi-2a und NaPi-2c und die renale Phosphatausscheidung (Gattineni, Bates et al. 2009; Martin, David et al. 2012).

Außerdem wirkt es als Inhibitor der 1-alpha-Hydroxylase (CYP27B1), die 25-OH-Vitamin D₂ (Calcidiol) zu physiologisch wirksamen 1-25-(OH)₂-Vitamin D₃ (Calcitriol) umsetzt. Parallel dazu wird die 24-alpha-Hydroxylase (CYP24A1), die den Abbau von Calcidiol und Calcitriol zu inaktivem 24,25-(OH)₂D katalysiert, aktiviert (Quarles 2012).

Umgekehrt stimuliert Calcitriol nach Bindung an ein Vitamin D Responsive Element (VDRE) in der Promotorregion des FGF-23-Gens dessen Transkription. Calcitriol und FGF-23 ergeben gemeinsam einen Regelkreis, der durch negative Rückkopplung funktioniert (Abb. 2). Calcitriol induziert FGF-23, das seinerseits Calcitriol inhibiert (Liu and Quarles 2007).

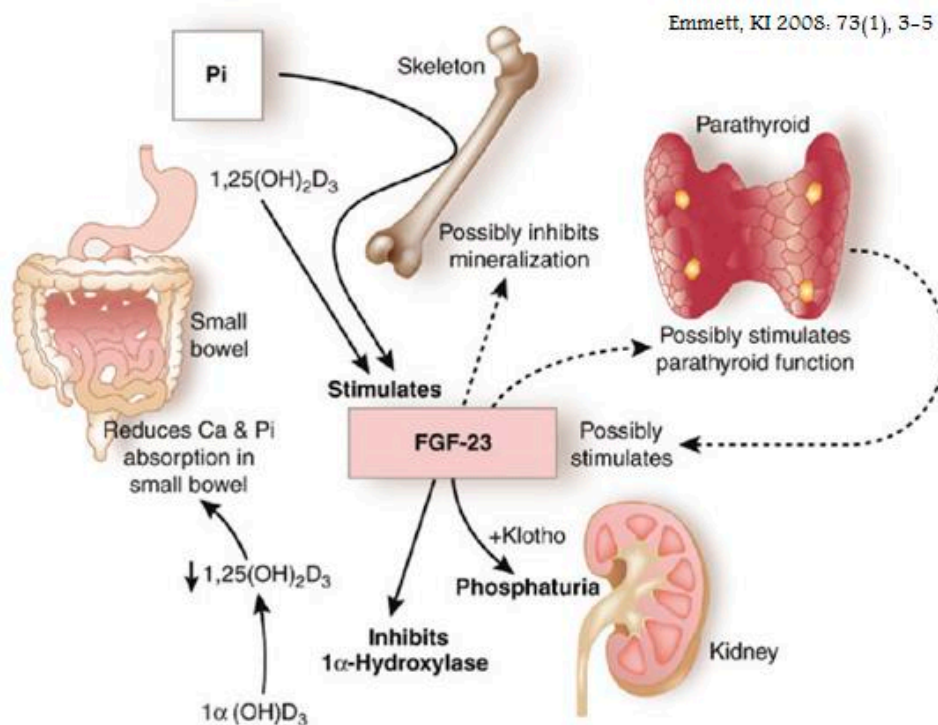


Abb. 2: Der Einfluss von FGF-23 auf den Phosphathaushalt (Emmett 2008)

Saji, Shigematsu et al. 2010). Unter diesen Bedingungen liegen ein sekundärer Hyperparathyreoidismus (sHPT) und extrem erhöhte FGF-23-Spiegel häufig parallel vor. Zum einen hemmt FGF-23 die bereits durch den Verlust von gesundem Nierengewebe reduzierte Calcitriolsynthese zusätzlich, zum anderen führen sowohl die in therapeutischer Absicht verabreichten Calcitriolpräparate als auch die erhöhten PTH-Spiegel zu einer weiteren Steigerung der FGF-23-Sekretion und somit zu einem Fortbestehen des Teufelskreises (Liu, Tang et al. 2006; Martin, David et al. 2012).

Der Parathormonrezeptor (PTHr1) wird in Osteoblasten, Osteozyten und Chondrozyten exprimiert und vermittelt dort eine Steigerung der FGF-23-Synthese sowie eine Hemmung des Wnt-Signalwegs über Sclerostin (Lee and Partridge 2009). Es gibt Hinweise, dass sich PTH indirekt auch hemmend auf die FGF-23-Synthese auswirkt. Verabreicht man gesunden Mäusen PTH, führt dies zu einem Anstieg von dentin matrix acidic phosphoprotein (DMP1) und in Folge zu einer Transkriptionshemmung von FGF-23 (Quarles 2011). Die Dynamik des Knochenumbaus selbst scheint die Interaktion zwischen PTH und FGF-23 zu beeinflussen um eine Gewährleistung der Normregulation von Knochenmineralisierung zu ermöglichen (Abb. 3).

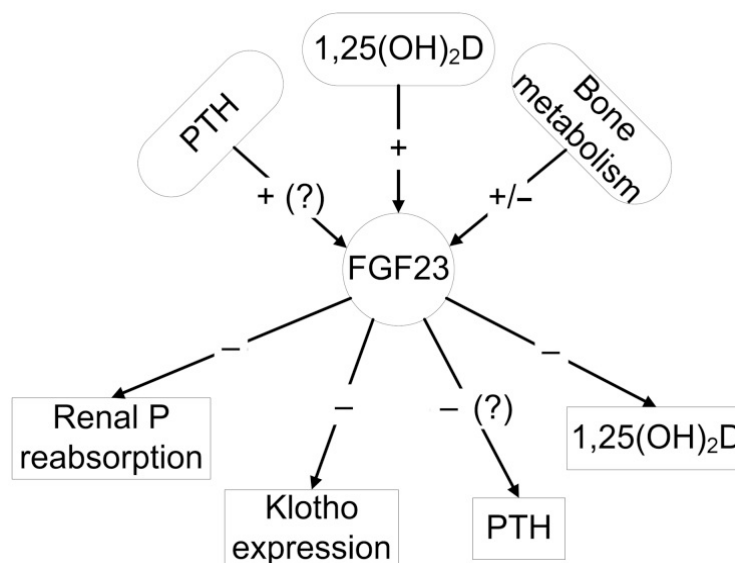


Abb. 3: Regulation und Effekte von FGF-23 (Kovesdy 2014)

FGF-23 ist der erste Parameter der Knochen-Nieren-Nebenschilddrüsenachse (Abb. 1), der sich infolge einer Nierenfunktionseinschränkung verändert (Gutierrez, Isakova et al. 2005). Dabei reicht bereits eine moderate renale Funktionseinschränkung ($\text{eGFR} < 58 \text{ ml/min/1,73m}^2$) aus um einen signifikanten FGF-23 Anstieg im Serum zu provozie-

ren (Weber, Liu et al. 2003). Wenn die Krankheit voranschreitet, sinken die 1,25-OHD-Werte und es entsteht ein sekundärer HPT (Isakova, Wahl et al. 2011). Dabei korreliert der FGF-23-Serumspiegel mit dem Ausmaß des sekundären HPT und ist Ausdruck der erworbenen parathyreoidalen FGF-23-Resistenz.

Die Auswirkung primärer Knochenerkrankungen auf die Regulation von FGF-23, oder invers, der Einfluss von FGF-23 auf die Pathogenese von Erkrankungen wie Osteoporose ist derzeit noch nicht erforscht.

1.3.2 Sclerostin als Regulator der skelettalen Homöostase

Sclerostin ist ein von Osteozyten synthetisiertes Glykoprotein, das von terminal differenzierten Osteozyten gebildet wird, wenn diese im Rahmen des Remodellings von neu gebildetem Osteoid umschlossen sind. Durch Sclerostin wird eine überschüssige Mineralisierung und Überfüllung der basic multicellular units (BMUs) vor Ort verhindert und umliegende Osteoblasten werden in inaktivem Zustand gehalten (Poole, van Bezooijen et al. 2005).

Sclerostin wird anhand seiner Aminosäuresequenz der DAN-Familie (differential screening-selected gene aberrant in neuroblastoma) zugeordnet. DAN-Proteine sind Inhibitoren der Knochenwachstumshormone aus der Familie der bone morphogenic proteins (BMP). Sclerostin ist kein typischer BMP-Antagonist sondern vermittelt seine Effekte durch die Inhibierung des Wnt-Signalwegs, einer Signaltransduktionskette an deren Ende die Modulation von Zielgenen mit osteoanabolen Effekten steht (van Bezooijen, Roelen et al. 2004).

Der Wnt-Signalweg begünstigt den Knochenaufbau. In Abwesenheit von Wnt bildet β -catenin Komplexe mit intrazellulären Kinasen (CK1, GSK3) und Tumorsuppressorproteinen (APC, Axin), was zu Phosphorylierung und proteosomalem Abbau von β -catenin führt. Wnt bildet mit einem Rezeptor der frizzled-Familie einen Komplex, der intrazelluläres β -catenin stabilisiert. Dieses akkumuliert und transloziert in den Zellkern. Dort bildet es einen Komplex mit dem TCF/Lef1-Transkriptionsfaktor (T-cell-specific transcription factor / lymphoid enhancer-binding factor). Ein Effekt des Wnt-Signalwegs in Osteoblasten ist die verminderte Synthese des Receptor Activator of NF- κ B Ligand (RANKL). RANKL ist durch Bindung an das Transmembranprotein Receptor Activator of NF- κ B (RANK) entscheidend an der Ausreifung von Osteoklastenvorläuferzellen zu Osteoklasten beteiligt (Abb. 4). Des Weiteren wird die Produktion von Osteoprotegerin (OPG), einem löslichen Bindungsprotein

für RANKL, stimuliert und so die Osteoklastogenese zusätzlich gebremst (van Bezooijen, ten Dijke et al. 2005).

Sclerostin inhibiert Wnt und bindet an einen aktiven Komplex aus low density lipoproteinreceptor related protein 5 und 6 (LRP5/6), einen wichtigen Cofaktor des Wnt-Wegs. Der genaue Wirkmechanismus ist noch nicht abschließend geklärt (Li, Zhang et al. 2005).

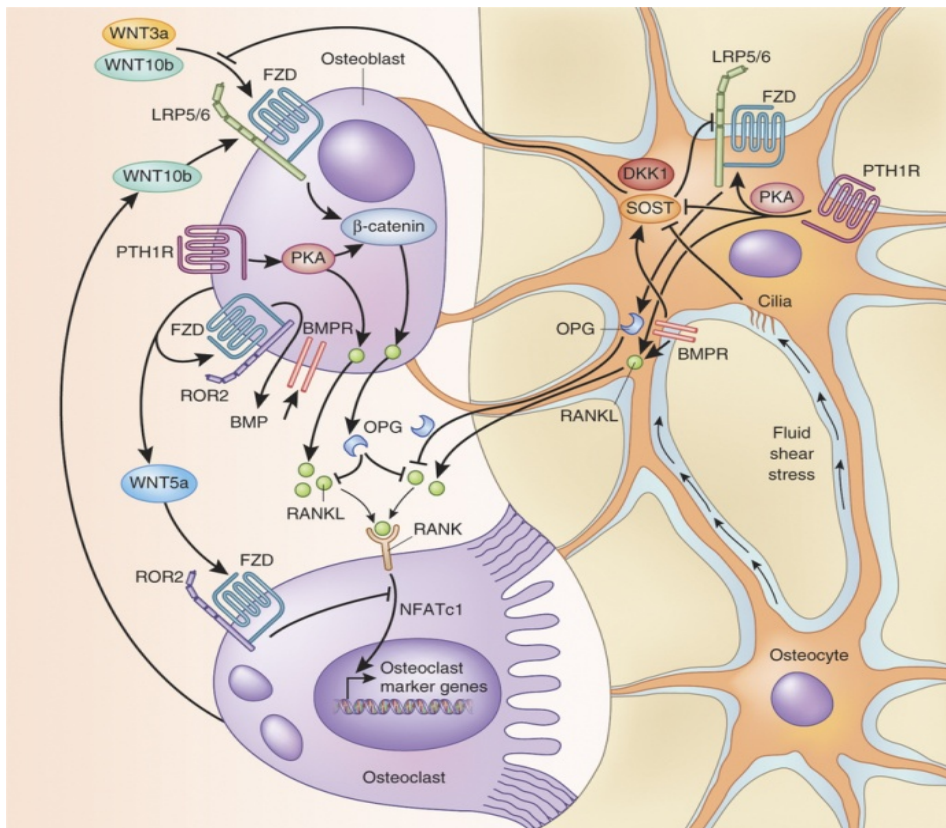


Abb. 4: Signaltransduktion zwischen Osteozyt, Osteoblast und Osteoklast.

Sclerostin verhindert über die Hemmung des Wnt-Signalwegs die Transkription osteoanaboler Genprodukte (OPG) und begünstigt die Ausschüttung von katabol wirkenden Botenstoffen (RANKL) (Baron and Kneissel 2013)

Mechanische Belastung führt zu gesteigertem Knochenaufbau durch vermehrte Aktivierung der Wnt-Signaltransduktion (Robinson, Chatterjee-Kishore et al. 2006). Das SOST-Gen scheint durch diesen Vorgang mit reguliert zu werden. Bei vermehrter mechanischer Belastung wurde im Zellexperiment weniger SOST-mRNA nachgewiesen als

in entlasteten Knochenzellen. Bei lokaler Belastung von Knochen konnte in den maximal beanspruchten Regionen am wenigsten SOST-mRNA nachgewiesen werden (Robling, Niziolek et al. 2008). Lin C et al konnten 2009 außerdem zeigen, dass Knochen von SOST-knockout-Mäusen auch bei weitestgehender Entlastung keinen Abbau erfuhren, sodass andersherum auch eine Beeinflussung dieser Vorgänge durch das SOST-Gen angenommen werden muss (Lin, Jiang et al. 2009).

Man vermutet eine direkte Wechselbeziehung zwischen Sclerostin und PTH. Im Tierversuch senkte die intermittierende Gabe von PTH die Bildung von SOST-mRNA und Sclerostin (Keller and Kneissel 2005). Ein in Osteozyten konstant aktivierter PTH-Rezeptor (caPTH1R) führte zu verstärktem Remodelling und verringerter SOST-Transkription. Trotz beschleunigter Osteoblastenapoptose stieg die Zahl der Osteozyten insgesamt (Bellido 2006). Inaktivierte man aber LRP5, verschwand dieser Effekt. Es steht also zu vermuten, dass PTH nur dann osteoanabol wirkt, wenn ein erhöhtes Wnt-signaling durch Sclerostin supprimiert wird (Moester, Papapoulos et al. 2010).

2 Ziel der Arbeit

Der Knochenstoffwechsel und die Nierenfunktion sind durch mehrere hormonelle Kreisläufe miteinander verbunden. Während sich die Nierenfunktion und der Elektrolythaushalt relativ einfach erfassen lassen, ist ein Monitoring des Knochenstoffwechsels noch immer eine Herausforderung.

Dies liegt unter anderem daran, dass die Knochenqualität nicht gut definiert und somit viel schwieriger in-vivo zu untersuchen ist. Die Serumkonzentrationen einzelner Hormone und Elektrolyte lässt sich zwar einfach bestimmen aber die physikalischen Variablen der Knochenzusammensetzung (Anzahl der Trabekuli, Dichte, Porosität) sind noch wenig untersucht. Die Veränderungen der skelettalen Mikroarchitektur könnten aber für das Entstehen ganz bestimmter Verletzungsmuster als Folge von objektiv geringer Gewalteinwirkung auf den Knochen entscheidend sein.

Wir vermuten, dass ein unterschiedliches Frakturmuster (perthrochantäre oder Schenkelhalsfraktur) mit unterschiedlichen Serumkonzentrationen von cFGF-23 und Sclerostin assoziiert ist. Daher haben wir im Rahmen einer prospektiven Querschnittsstudie Patienten mit perthrochantärer oder Schenkelhalsfraktur zum Zeitpunkt der Fraktur eingeschlossen und

- die Knochenmikroarchitektur mithilfe von ex-vivo μ CT-Untersuchungen
- die Serumkonzentrationen von cFGF-23 und Sclerostin zum Zeitpunkt der Fraktur (Einlieferung in die Klinik) und während der postoperativen Erholungsphase

und

- die Flächenbezogene Mineraldichte des jeweils kontralateralen proximalen Femurs und der lumbalen Wirbelsäule (aBMD) mittels DXA (dual x-rayabsorptiometry)

bestimmt.

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign und Probanden

Für diese prospektive, klinisch-experimentelle Studie untersuchten wir Patienten, die aufgrund einer osteoporotischen, hüftgelenksnahen Fraktur des Femurs in der Abteilung für Unfall- Hand- und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Rostock operativ versorgt werden mussten und zum Zeitpunkt der Verletzung mindestens 65 Jahre alt waren.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Rostock genehmigt (Geschäftszeichen der Ethikkommission A 2009/63) und entspricht nationalen Gesetzen, Vorschriften und der ICH-GCP-Leitlinie in der zum Zeitpunkt der Antragsstellung gültigen Fassung. Alle Patienten oder deren gesetzliche Betreuer wurden im Vorfeld der Studienteilnahme ausführlich über Umfang und Inhalt aufgeklärt und gaben Ihre schriftliche Einwilligung.

Ausschlusskriterien waren pathologische Frakturen auf dem Boden einer malignen Grunderkrankung, das Vorliegen einer terminalen und oder dialysepflichtigen Niereninsuffizienz oder eine antiandrogene Therapie innerhalb der letzten 12 Monate vor dem Trauma.

Im Erhebungszeitraum zwischen April 2010 und Juni 2011 erfüllten insgesamt 82 von 92 Patienten (davon 21 männlich) diese Kriterien und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme. Gründe für den Ausschluss waren eine maligne Grunderkrankung (n=4), eine dialysepflichtige Niereninsuffizienz (n=5) und antiandrogene Therapie (n=1). Einzelne Untersuchungen innerhalb der Studie konnten von den Patienten jederzeit abgelehnt werden. Der Studienablauf ist in Tabelle 1 schematisch dargestellt.

Die Patienten wurden nach ihrem Frakturmuster (mediale Schenkelhalsfraktur / pertrochantäre Fraktur) in Gruppen eingeteilt.

Tab. 1: Schematische Darstellung des Studienablaufs

Tag 1 (t_1)	<ul style="list-style-type: none"> * stationäre Aufnahme * 1. (präoperative) Blutentnahme * präoperatives Röntgen des Thorax und Übersichtsaufnahme des kleinen Beckens * OP
Tag 2 (t_2)	<ul style="list-style-type: none"> * Blutentnahme * Spontanurinprobe
Tag 3	<ul style="list-style-type: none"> * postoperatives Röntgen der versorgten Fraktur
Tag 6 (t_3)	<ul style="list-style-type: none"> * Blutentnahme t_3
ab Tag 7	<ul style="list-style-type: none"> * Bestimmung der Körperzusammensetzung mittels BCM * DXA-Messung LWS und kontralaterale Schenkelhalsregion

3.2 Durchführung

3.2.1 Ermittlung der flächenbezogenen Knochendichte (aBMD)

Während des stationären Aufenthalts wurde die Knochendichte (Flächendichte g/cm^2) leitliniengerecht mittels DXA (Lunar Prodigy, GE Healthcare, Großbritannien) mit einer konstanten Gleichspannung von 100kV und einem K-Kantenfilter ermittelt. Bei den untersuchten Regionen handelt es sich um die lumbale Wirbelsäule und den kontralateralen Schenkelhals, sofern diese nicht bereits mit Metallprothesen besetzt waren. Der intra- und interindividuelle Abweichungskoeffizient der Messungen lag unter 5%. Die Ergebnisse wurden als T-Score angegeben, d.h. die geschlechtsspezifische, standardisierte Abweichung der gemessenen Flächendichte von der "peak bone mass". Letztere entspricht dem Maximum der von knochengesunden, etwa 30jährigen Individuen gleichen Geschlechts erreichten Knochendichte.

3.2.2 Ermittlung der individuellen Körperzusammensetzung

Der Grad der Dehydratation und die Körperzusammensetzung wurde mithilfe des Body Composition Monitors (BMC, Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Deutschland) bestimmt.

3.2.3 Gewinnung und Analyse der Blut- und Urinproben

Die Entnahmen der Blut- und Urinproben erfolgten während des stationären Aufenthalts zu drei festen Zeitpunkten im Rahmen der üblichen klinischen Versorgung. Zusätzlich wurden in der ersten postoperativen Blutprobe entsprechend der aktuellen DVO-Leitlinien (DVO 2011) die für Osteoporose empfohlenen Parameter bestimmt. Die Analysen der Serumproben erfolgten mit etablierten, automatisierten Laboruntersuchungen im Zentrallabor des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Rostock (Leitung (k): Dr. med. P. Kohlschein, jetzt Fr. Dr. C. Burstein). Die Ergebnisse wurden im Kontext der vom Labor angegebenen Referenzwerte beurteilt.

Tab. 2: Übersicht über die im Blut bestimmten Parameter

präoperativ t ₁	kleines Blutbild Serum: Natrium, Kalium, Calcium, ASAT, ALAT, AP, Kreatinin, Harnstoff, TSH
1. Tag postoperativ t ₂	kleines Blutbild Serum / Plasma: Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, Phosphat, Magnesium, Triglyceride, Cholesterol, Protein, Protein-Elektrophorese, ASAT, ALAT, AP, Kreatinin, Harnstoff, Cystatin C, Parathormon, 25-OH-VitaminD, IGF1, IGFBP, ♀: 17β-Estradiol, ♂: Testosteron
6. Tag postoperativ t ₃	kleines Blutbild Serum: Natrium, Kalium, Calcium, Kreatinin

Im Einzelnen wurden folgende Messinstrumente verwendet:

Firma Beckman Coulter (Krefeld, Deutschland):

- UniCelDxC Clinical System zur Bestimmung von AP; Kreatinin, Calcium, Phosphat
- Immage® zur Bestimmung von Cystatin C

Firma Roche (Basel, Schweiz)

- Elecsys® zur Bestimmung von iPTH, Testosteron, Estradiol, IGF-1, IGFBP-3

Die glomeruläre Filtrationsrate (eGFR, estimated glomerular filtration rate) wurde anhand der MDRD-Formel ermittelt (Levey, Bosch et al. 1999):

$$\text{GFR [ml/min/1.73m}^2\text{]} = 186 \times (\text{Kreatinin [mg/dl]}^{-1.154}) \times \text{Alter [Jahre]}^{-0.203} \times k$$

k ist ein Korrekturfaktor und beträgt 0,742 für Frauen und 1 für Männer.

Sofern die oben genannten Analysen nicht im Rahmen des stationären Aufenthaltes erfolgten, wurden sie zu einem späteren Zeitpunkt vom selben Labor vorgenommen. Zu jedem Zeitpunkt wurden jeweils 1 Serum- und EDTA-Monovette im Forschungslabor der Experimentellen Pädiatrie mit Nephrologie und Neonatologie der Kinder- und -Jugendklinik der Universitätsmedizin Rostock (Leitung: Fr. PD Dr. rer. nat. D.-C. Fischer) bearbeitet und das C-terminale Ende von FGF-23 (cFGF23) und Sclerostin manuell bestimmt.

Die Blutproben wurden bei 4°C und 960g für 15 Minuten zentrifugiert, anschließend in Aliquote von 0,2 - 1 ml aufgeteilt und bei -80°C bis zur weiteren Analyse asserviert.

Die Bestimmungen von Sclerostin und cFGF-23 erfolgten entsprechend den Herstellerangaben mittels kommerzieller ELISA-Kits.

- für cFGF-23: Immutopics, San Clemente, Kalifornien, U.S.A.
- für Sclerostin: Teco Medical, Sissach, Schweiz

Alle Messungen wurden manuell als Doppelbestimmungen durchgeführt. Sofern beide Werte um mehr als 10% voneinander abwichen, erfolgte eine erneute Bestimmung aus einem frischen, bisher nicht aufgetauten Aliquot. Die untere Nachweisgrenze lag für Sclerostin bei 0,13 ng/ml und für cFGF-23 bei 1,5 kRU/l.

3.2.4 Gewinnung und Asservierung der Knochenproben

Alle Patienten bedurften einer Notoperation aufgrund ihres erlittenen Traumas. Im Falle einer pertrochantären Fraktur wurde eine geschlossene Reposition und Osteosynthese mittels Marknagelung (Targon PFTTM, Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) durchgeführt. Das intraoperative Vorgehen, sowie die Auswahl des operativen Zugangs zum Markraum an der Spitze des Trochantermajor erfolgten streng nach Herstellerangaben. Beim Auffräsen des Markkanals mittels Hohlfräse entstand ein Knochenzylinder, der für weitere morphologische Untersuchungen genutzt wurde. Im Falle medialer Schenkelhalsfrakturen wurden entweder Duokopf-Endoprothesen (Mathys, Bettlack, Schweiz) oder Totale Hüftendoprothesen (TEP, Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) implantiert. Für die Studie wurde hier jeweils ein Knochenchip mit einer Luer-Knochenzange aus der medialen Schenkelhalsregion entnommen.

Die Knochenproben wurden nach Entnahme umgehend in 70% Ethanol verbracht und bei 4°C bis zur weiteren Untersuchung gelagert.

3.2.5 Analyse der Knochenproben mit hochauflösender Mikrocomputertomographie (μ CT)

24 Stunden vor der Analyse wurden die Knochenproben aus der Ethanollösung zur Rehydratation in 0,9% Natriumchloridlösung überführt. Kurz vor der Analyse wurde jede Probe in Klarsichtfolie gewickelt und in ein passendes Polypropylenröhrchen gegeben, um ein Austrocknen während der Messung und damit assoziierte Artefakte zu verhindern. Geeignete Styroporformen ermöglichten die stabile, horizontale Lagerung der Proben im μ CT (Skyscan1076 micro-CT, Bruker Corporation, Billerica, Massachusetts, U.S.A.). Die lange Achse der Knochenprobe befand sich jedes Mal orthogonal zur optischen Achse des Scanners. Zur bildmorphologischen Rekonstruktion und Analyse der Schnittbilder benutzten wir die zum Gerät gehörige Software (CTAn, V1.1; NRecon, Version 1.6.6.0; Bruker Corporation, Billerica, Massachusetts, U.S.A.) gemäß den Empfehlungen des Entwicklers Phil Salmon (Bruker Inc.). Zur Kalibrierung wurden Proben mit bekannter Mineraldichte und Größe (Knochenphantome) unter denselben Bedingungen wie die Knochenproben gescannt (technische Daten s. Tab. 3).

Tab. 3: Einstellungen des μ CT und der folgenden Schnittbildanalyse

Parameter	Einstellung
Aufnahme	
beam-flattening filter	0.5mm Al
X-ray tube potential	49 kV
X-ray intensity	200 μ A
Image pixel size / camera resolution	18 μ m / 2000 * 1336
tomographic rotation	180°
rotation step	0.4°
frame averaging	2
Analyse	
beam hardening correction	30%
defect pixel masking	20%
ring artifact reduction	6
alignment correction	automatic
segmentation threshold	64

Die Region of Interest (ROI) umfasste ausschließlich Spongiosa und wurde für jede Probe individuell manuell gezeichnet. So konnten Zonen, in denen durch das operative Vorgehen oder die spätere Lagerung bedingte Artefakte entstanden waren, ausgeschlossen werden. Das betraf vor allem das Innere der Knochenzylinder sowie die äußeren Randbereiche, die durch Druckeinwirkung, bspw. der Hohlfräse, Quetschungen aufwiesen.

Für jede Probe wurde

- das Verhältnis des Knochenvolumens zum Gesamtvolumen des Gewebes der ROI (bonevolume / tissuevolume BV/TV)
- die Anzahl der Trabekel pro Einheitslänge (trabecularnumber, TbN)
- die durchschnittliche Dicke der erfassten Trabekel (trabecularthickness, TbTh)
- die gemittelte Entfernung zwischen den erfassten Trabekeln (trabecularseparation, TbSp)
- der Grad der intertrabekulären Verknüpfung in Bezug auf das Gewebenvolumen der ROI (connectivitydensity, ConnD)
- den Grad der Anisotropie (degreeofanisotropy, DA)
- und die volumetrische Mineraldichte des Knochens (volumetricbonemineraldensity, vBMD)

bestimmt.

Um die Präzision der Messungen zu erhöhen, wurden drei zufällig ausgewählte Knochenproben jeweils drei Mal auf die o.g. Weise analysiert. Der Abweichungskoeffizient war in Übereinstimmung mit einer dazu erschienenen Studie für keinen der o.g. Parameter größer als 10% (Ho, Wu et al. 2013).

3.2.6 Statistik

Die gewonnenen Daten wurden mit SPSS statistical package 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.) analysiert. Zur Prüfung auf Normalverteilung wurde der Kolmogorow-Smirnov-Test angewandt. Vergleiche zwischen den Gruppen erfolgten bei nicht normalverteilten Werten und relativ geringer Fallzahl mittels Mann-Whitney-U-Test. Alle p-Werte sind zweiseitig bestimmt und Signifikanz bestand ab einem $p < 0,05$. Die Daten werden im Folgenden als Median und Spannweite (Minimum und Maximum) angegeben. Falls notwendig wurden die Regressionskoeffizienten für Alter und / oder eGFR kontrolliert und die Korrelationsanalysen mit dem Spearmanverfahren berechnet.

4 Ergebnisse

4.1 Anthropomorphische und klinische Daten der Patienten

Die anthropomorphischen Daten und klinischen Charakteristika der Patienten, die in 49 Fällen eine pertrochantäre und in 33 Fällen eine Schenkelhalsfraktur erlitten, sind in Tabelle 4 dargestellt. Bei 49 Patienten (davon 48 mit pertrochantärer Fraktur) war die chirurgische Versorgung mittels Gammanagelung, in 24 Fällen (davon 1 pertrochantäre Fraktur) die Implantation einer Duokopfprothese oder TEP indiziert. In 9 Fällen wurde eine Platten- oder Schraubenosteosynthese durchgeführt. In Abbildung 5 sind die Röntgen-Übersichtsaufnahmen des kleinen Beckens (Strahlengang a.-p.) zweier Patientinnen mit Schenkelhals- bzw. pertrochantärer Fraktur vor und nach chirurgischer Versorgung abgebildet.

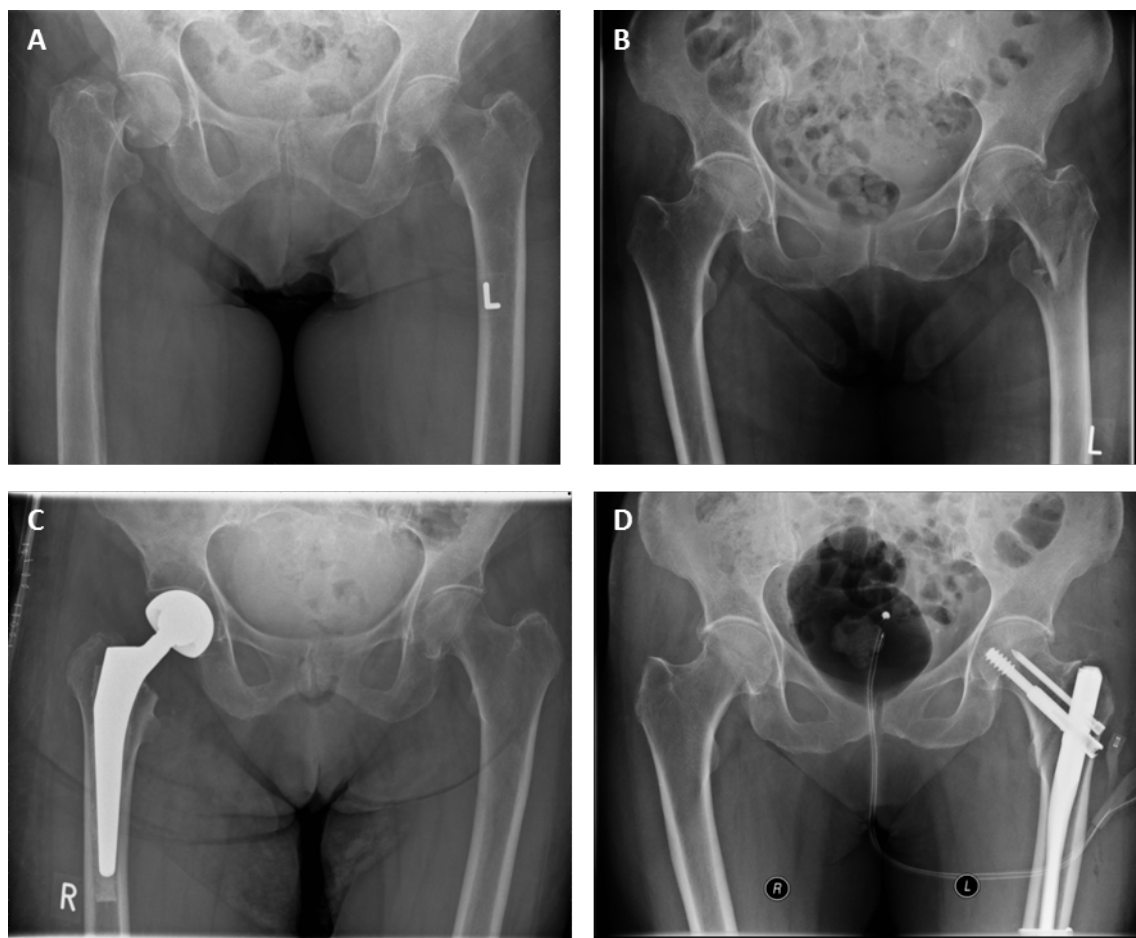


Abb. 5 Prä- und postoperative Röntgenbilder einer Patientin mit Schenkelhalsfraktur (A, C) und pertrochantärer Fraktur (B, D).

Die Frakturen wurden mit einer Duokopfprothesenimplantation (C) und einer Osteosynthese mit Targon PFT® (D) versorgt.

Zwei männliche Patienten verstarben im postoperativen Verlauf aufgrund ihrer Komorbiditäten im Alter von 78 und 79 Jahren.

Tab. 4: Anthropomorphische und klinische Charakteristika zum Zeitpunkt der Fraktur

Parameter	alle (♀ 61 / ♂ 21)	petrochantäre Frakturen (♀ 37 / ♂ 12)	Schenkelhals- frakturen (♀ 24 / ♂ 9)
Alter [Jahre]	84 (68 – 98)	85 (72 – 98)	84 (68 – 97)
männlich	79 (70 – 94)	83 (76 – 94)	77 (70 – 89)
weiblich	85 (68 – 98)	86 (72 – 98)	84 (68 – 97)
Größe [cm]	163 (145 – 181)	162 (145 – 175)	165 (148 – 181)
männlich	170 (155 – 181)	168 * (155 – 175)	176* (170 – 181)
weiblich	160 (145 – 180)	160 (145 – 172)	160 (148 – 180)
Gewicht [kg]	62 (42 – 100)	62 (45 – 90)	62 (42 – 100)
männlich	78 (50 – 100)	75 (55 – 90)	79 (50 – 100)
weiblich	60 (42 – 90)	62 (45 – 90)	57 (42 – 80)
BMI [kg/m²]	24,1 (17,3 – 37)	24,4 (18,6 – 37,0)	23,1 (17,3 – 32,3)
männlich	24,6 (17,3 – 22,3)	25,5 (19,8 – 31,2)	24,4 (17,3 – 32,3)
weiblich	23,8 (18,2 – 37,0)	24,1 (18,6 – 37,0)	22,9 (18,2 – 28,7)
Wasserhaushalt [l]	-0,3 (-2,9 – 4,2)	-0,6 (-2,9 – 2,0)	0,3 (-2,9 – 4,2)
männlich	0,05 (-2,9 – 4,2)	-1,0 (-2,9 – 1,9)	1,3 (-0,2 – 4,2)
weiblich	-0,5 (-2,9 – 2,0)	-0,5 (-2,9 – 2,0)	-0,5 (-2,9 – 1,5)

* $p < 0,05$ = signifikanter Unterschied der Werte zwischen den Frakturtypen; alle Werte sind als Median und Range angegeben.

Die Daten waren zwischen den Geschlechtern gut vergleichbar und unterschieden sich mit Ausnahme der Körpergröße ($p < 0,05$) nicht signifikant voneinander. Wie erwartet, nimmt die Körpergröße mit zunehmendem Alter ab (Abb. 6).

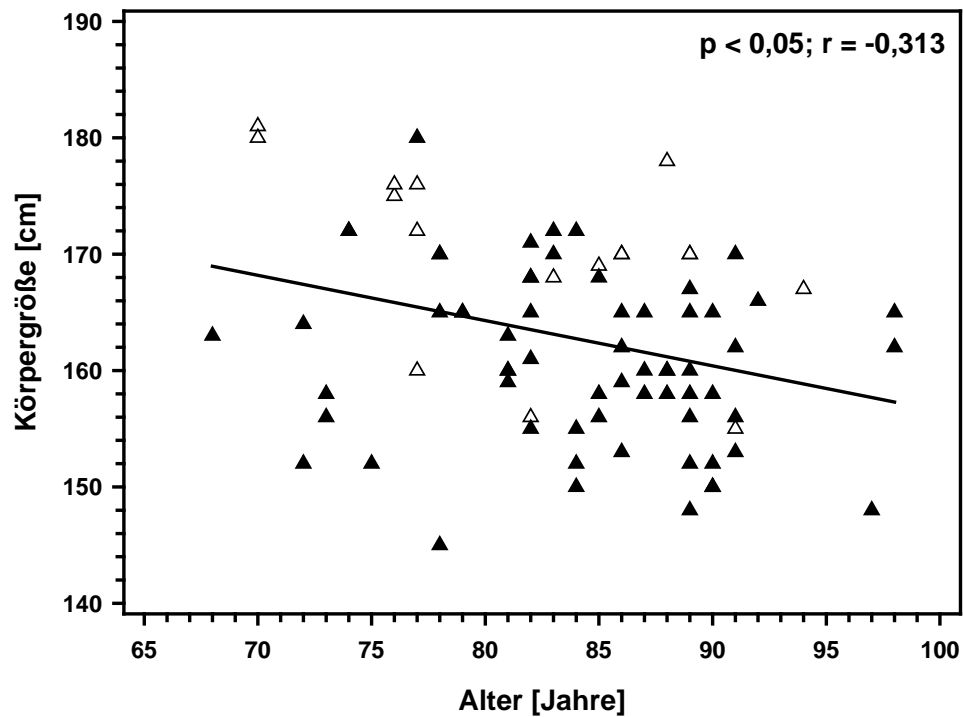


Abb. 6: Zusammenhang zwischen Alter und Körpergröße; Δ = Männer; \blacktriangle = Frauen

4.2 Nierenfunktion, Calcium-, Phosphat- und Hormonhaushalt zum Zeitpunkt t_2

Die klinisch chemischen Analysen wurden am ersten postoperativen Tag (t_2), im Rahmen der umfangreichsten Blutentnahme, durchgeführt (Tab. 5).

Tab 5: Ausgesuchte Laborwerte am 1. postoperativen Tag (t_2)

Parameter	alle (♀ 61 / ♂ 21)	pertrochantäre Frakturen (♀ 37 / ♂ 12)	Schenkelhals- frakturen (♀ 24 / ♂ 9)
Calcium [mmol/l] (2,2-2,55)	2,08 (1,85 - 2,54)	2,07 (1,88 - 2,49)	2,09 (1,85 - 2,54)
Phosphat [mmol/l] (0,78 – 1,53)	0,94 (0,56 - 1,85)	0,97 (0,56 - 1,84)	0,85 (0,57 - 1,43)
PTH [pg/ml] (15 - 65)	60,1 (16,7 - 256)	63,0 (19,1 - 256,0)	55,4 (16,7 - 139,0)
25-OHD [nmol/l] (>75)	26,6 (7,5 - 81)	27,9 (10,6 - 81,0)	27,2 (7,5 - 77,3)
Estrogen [pmol/l] (weibliche Patienten)	113,0 (23,4 - 308,0) (n = 55)	111,0 (23,4 - 267,0) (n = 32)	120,0 (28,1 - 308,0) (n = 23)
Testosteron [µg/l] (männliche Patienten)	1,96 (0,83 - 3,75) (n = 16)	1,67 (0,83 - 2,61) (n = 9)	2,66 (1,61 - 3,75) (n = 7)

Für alle Parameter sind die Referenzbereiche des Zentrallabors angegeben.

Bei 71 Patienten(davon 46 pertrochantäre Frakturen), bestand eine leichte bis mäßige Einschränkung der Nierenfunktion (eGFR30 - 90 ml/min / $1,73\text{m}^2$, entsprechend CKD-Stadien 1-3 nach den Richtlinien der American Society of Chronic Kidney Disease (Moe, Drüeke et al. 2009). Bei 3 Patienten, davon 2 mit pertrochantärer Fraktur, musste eine hochgradige Niereninsuffizienz (eGFR< 30 ml/min / $1,73\text{m}^2$, entsprechend Stadium 4) konstatiert werden. (Abb. 7)

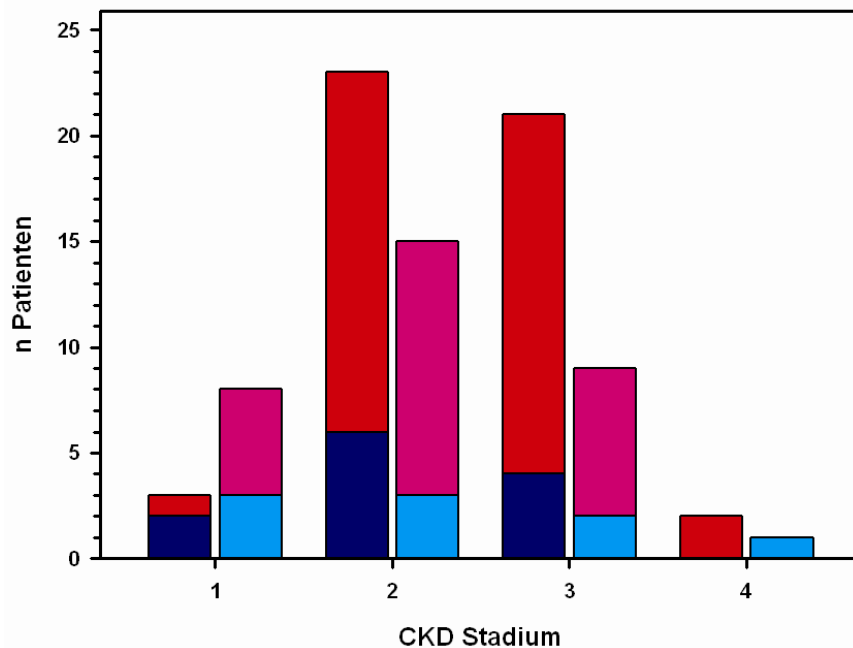


Abb. 7: Prävalenz der Niereninsuffizienz nach KDIGO-Stadien, Art der Fraktur und Geschlecht.

dunkelblau/rot = peritrochanterische Fraktur, cyan / pink = Schenkelhalsfraktur; dunkelblau bzw. cyan = männlich; rot bzw. pink = weiblich

Die Serumspiegel von 25OH-VitaminD₃ wurden anhand der Referenzwerte des Zentral-labors und in Anlehnung an Bogunovic et al. als normal: >75 nmol/l, insuffizient: 50-75 nmol/l oder ungenügend (<50 nmol/l) kategorisiert (Bogunovic, Kim et al. 2010). Demnach waren bei nur 2 Patienten (1 peritrochanterische Fraktur) normwertige Serumspiegel messbar, 12 Patienten (8 peritrochanterische Frakturen) wiesen insuffiziente und 68 Patienten ungenügende Werte auf. Bei 37 Patienten (8 Männer, 12 Schenkelhalsfrakturen) lag ein sekundärer Hyperparathyreoidismus vor.

Ein altersuntypischer Mangel an Androgenen konnte bei keinem Patienten nachgewiesen werden.

4.3 Ergebnisse der DXA-Messung

Von 82 Patienten stimmten 53 der Knochendichtemessung (DXA) zu und bei allen konnte die aBMD der lumbalen Wirbelsäule bestimmt werden. Die Untersuchung der kontralateralen Schenkelhalsregion war aufgrund von orthopädischen Implantaten nur bei 46 Patienten (davon 28 peritrochanterische Frakturen) möglich. Anhand der gemessenen T-Scores konnte für 33 Patienten (davon 22 peritrochanterische Frakturen) eine osteoporotische, für 10 Patienten (davon 4 peritrochanterische Frakturen) eine osteopore

Knochendichte diagnostiziert werden. 3 Patienten (2 davon mit pertrochantärer Fraktur) wiesen, im Widerspruch zur klinischen Diagnose, einen normwertigen T-Score auf.

Der an der LWS gemessene T-score war bei den Frauen schlechter als bei den Männern, während der am Schenkelhals gemessene T-score nahezu identisch war (Tab. 6).

Obwohl der T-Score an unterschiedlichen anatomischen Regionen bestimmt wurde, gab es keine großen Differenzen der Werte untereinander und es bestand keine Assoziation zwischen T-score und Art der Fraktur. Bei den Patienten mit Schenkelhalsfraktur gibt es eine deutliche Korrelation zwischen $T\text{-Score}_{LWS}$ und $T\text{-Score}_{SH}$ ($r=0,61$, $p < 0,01$). Nach Korrektur für Alter und eGFR konnte dieser Zusammenhang jedoch nicht mehr nachgewiesen werden.

Tab. 6: Ergebnisse der DXA-Messungen

	alle	pertrochantäre Frakturen	Schenkelhals- frakturen
T-score LWS (n = 53)	-2,4 (-4,6 - 1,8)	-2,5 (-4,6 - 1,0)	2,0 (-3,7 - 1,8)
männlich (n = 12, 9 pertr. Fx)	-0,9 (-3,4 - 1,8)	-2,0 (-3,4 - 0,7)	0,6 (0,2 - 1,8)
weiblich (n = 41, 27 pertr. Fx)	-2,5 (-4,6 - 1,0)	-2,5 (-4,6 - 1,0)	-2,2 (-3,7 - -0,7)
T-score SH (n = 46)	-2,8 (-4,6 - 1,8)	-2,9 (-4,6 - 1,8)	-2,8 (-4,1 - -0,5)
männlich (n = 10, 7 pertr. Fx)	-3,0 (-4,6 - -0,5)	-3,2 (-4,6 - -2,3)	-1,9 (-3,1 - -0,5)
weiblich (n = 36, 21 pertr. Fx)	-2,8 (-4,4 - 1,8)	-2,8 (-4,4 - 1,8)	-2,8 (-4,1 - -1,3)

4.4 Untersuchung der Knochenmikroarchitektur und Bestimmung der volumetrische Knochendichte im μ CT

Von 58 Patienten (davon 44 mit pertrochantärer Fraktur) war die intraoperativ gewonnene Knochenprobe für die Analyse der Mikroarchitektur und Bestimmung der vBMD geeignet. Abb. 8 zeigt die 3D- μ CT-Rekonstruktionen einer gesunden und einer osteoporotisch veränderten Knochenprobe und Tabelle 7 gibt einen Überblick über die

Ergebnisse der quantitativen Analyse nach 3-D-Rekonstruktion. Für die Werte ergibt sich kein Unterschied zwischen den Geschlechtern.

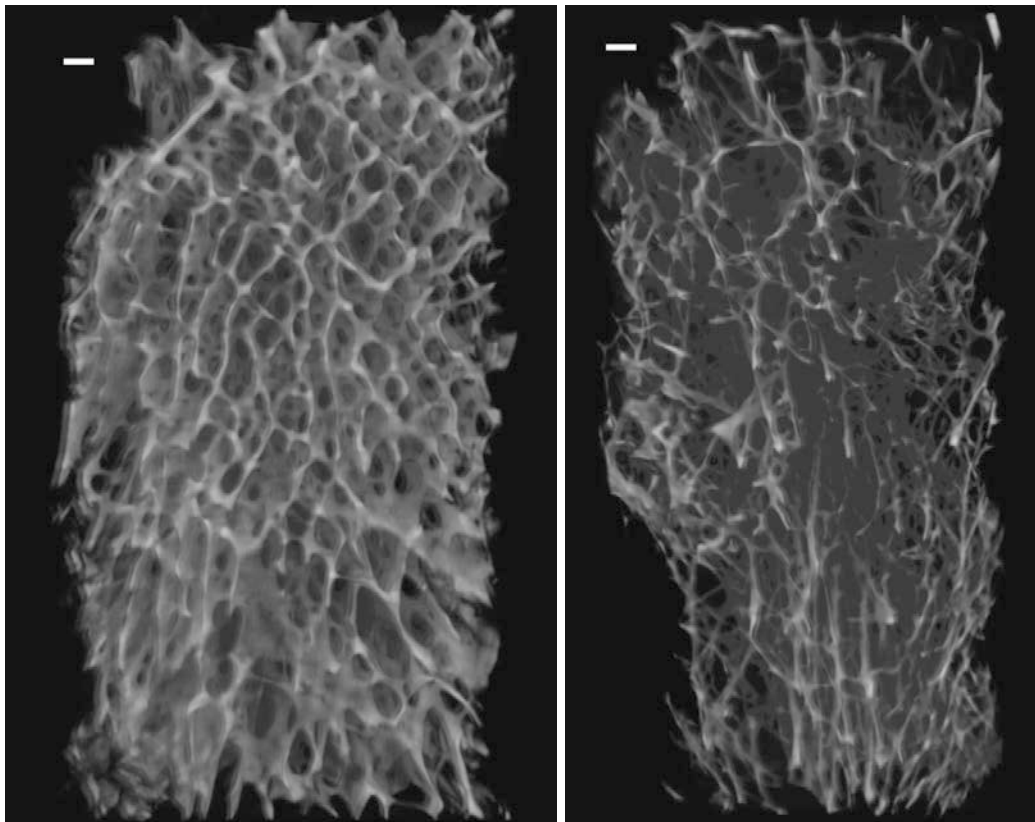


Abb. 8: Rekonstruktionen nach μ CT Untersuchung von gesundem (links) und osteoporotisch (rechts) verändertem humanem Femur.

Patienten, die eine Schenkelhalsfraktur erlitten hatten, zeigten alterskorrigiert eine signifikant positive Assoziation zwischen TbTh und den an Schenkelhals oder LWS gemessenen T-Scores. Ein derartiger Zusammenhang zeigt sich nicht bei peritrochantärem Frakturmuster.

Innerhalb des gesamten Patientenkollektivs, finden sich, ohne Berücksichtigung von Alter, eGFR und Art der Fraktur, schwache Korrelationen zwischen eGFR und BV/TV ($r=0,31$; $p < 0,05$) und eGFR und vBMD ($r=0,27$; $p < 0,05$). Wird das Alter als Kovariable berücksichtigt, sind diese Zusammenhänge nicht mehr nachweisbar.

Zwischen den Mikroarchitekturparametern und cFGF-23, Sclerostin, PTH oder 25-OHD gab es keinen statistischen Zusammenhang.

Tab.7: Ergebnisse der μ CT-Analyse

	alle n = 58	pertrochantäre Frakturen n = 44	Schenkelhals- frakturen n = 14
BV/TV [%]	16,8 (7,12 - 27,0)	16,9 (10,6 - 27,0)	13,2 (7,12 - 22,67)
TbN [1/mm]	0,97 (0,41 - 1,84)	0,98 (0,55 - 1,39)	0,80 (0,41 - 1,84)
TbTh [mm]	0,18 (0,10 - 0,24)	0,18* (0,10 - 0,31)	0,20* (0,15 - 0,5)
TbSp [mm]	0,67 (0,18 - 1,30)	0,66* (0,40 - 1,15)	0,96* (0,18 - 1,30)
ConD [1/mm]	5,24 (1,17 - 9,62)	6,29* (1,24 - 9,62)	2,86* (1,17 - 9,59)
DA	1,93 (1,23 - 7,43)	1,81* (1,23 - 3,86)	2,27* (1,88 - 7,43)
vBMD [g/cm³]	0,14 (0,02 - 0,42)	0,14 (0,02 - 0,42)	0,14 (0,04 - 0,19)

* $p < 0,05$ = signifikanter Unterschied zwischen den Frakturtypen

4.5 Die Serumspiegel von cFGF-23 und Sclerostin

Die Bestimmung von cFGF-23 zu den Zeitpunkten t_1 und t_2 gelang bei 76 und 75 Patienten (davon 44 und 43 Patienten mit pertrochantären Frakturen). Die Bestimmung von Sclerostin war bei 77 und 74 Patienten (davon 45 und 42 mit pertrochantärer Fraktur) möglich (Abb. 9). Dabei wurden für cFGF-23 an t_2 höhere Werte als an t_1 oder t_3 gemessen. Die zu t_1 und t_3 bestimmten Konzentrationen unterscheiden sich nicht. Dieses Muster ist unabhängig vom Frakturtyp. Für Sclerostin wurden an t_1 und t_2 höhere Werte gemessen als an t_3 . Die zu den Zeitpunkten t_1 und t_2 gemessenen Konzentrationen unterscheiden sich nicht. In der Gruppe mit den pertrochantären Frakturen unterschieden sich die Sclerostinwerte an t_1 und t_3 nicht. Zu jedem Zeitpunkt wurden bei den Patienten mit pertrochantärer Fraktur höhere cFGF-23-Werte als bei den Patienten mit Schenkelhalsfraktur gemessen.

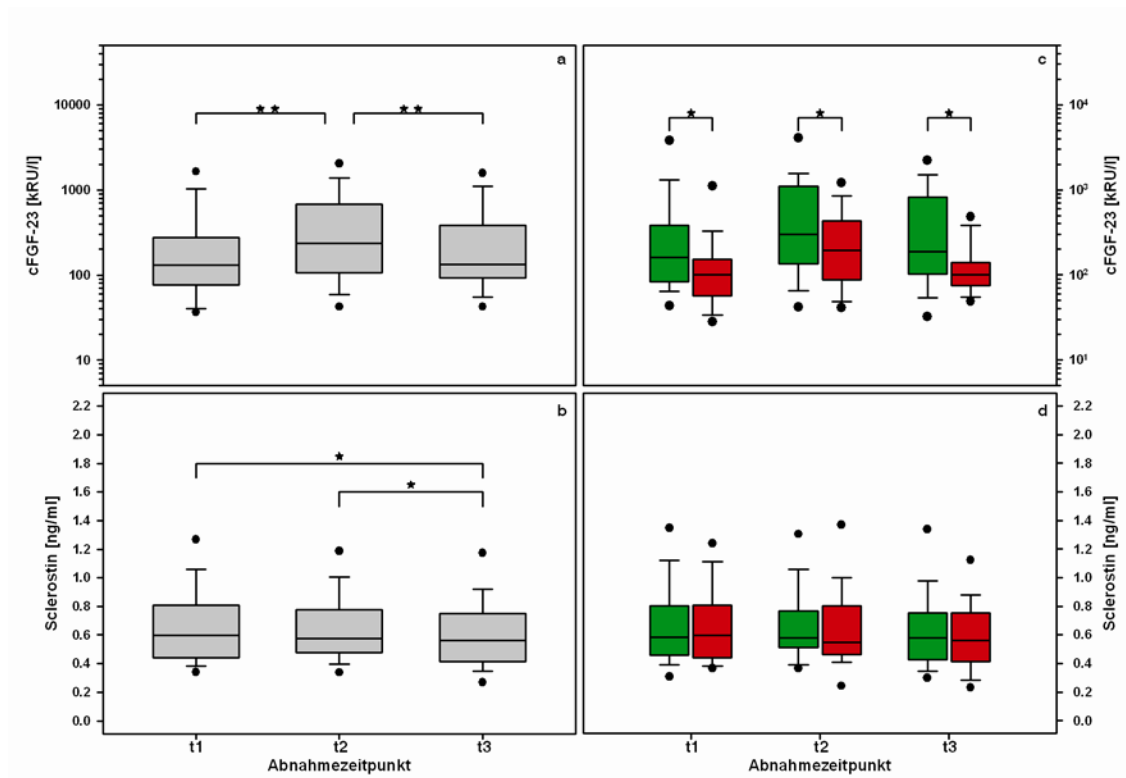


Abb.9: Die Konzentrationen von cFGF-23 und Sclerostin zu den einzelnen Zeitpunkten bei allen Patienten (a, b) und nach Aufteilung in Frakturtypen (c, d). peritrochantäre Fraktur (grün) und Schenkelhalsfraktur (rot) * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$

Die erwarteten Zusammenhänge zwischen cFGF-23 und Nierenfunktion konnten vom Frakturmuster unabhängig nachgewiesen werden. Die Assoziation zwischen cFGF-23 und Alter besteht nicht in der Gruppe mit Schenkelhalsfrakturen. Die Serumkonzentrationen von Sclerostin zum Messzeitpunkt t_2 waren in unserem Kollektiv für den Großteil der Patienten normwertig und auch in den Untergruppen unabhängig von der Nierenfunktion. Nur bei den Schenkelhalsfrakturen bestand eine negative Korrelation zwischen Alter und Sclerostin zum Zeitpunkt t_1 ($p < 0,05$; $r = -0,513$). (Abb. 10).

Benutzt man das Alter als Kovariable, zeigt sich aber dass der Zusammenhang zwischen cFGF-23 und eGFR zum Zeitpunkt t_2 nur für Patienten mit peritrochanteräer Fraktur besteht ($r=0,48$; $p < 0,01$). Weiterhin hebt sich auf diese Weise der statistische Zusammenhang zwischen cFGF-23, PTH und 25-OHD auf, unabhängig davon ob man das Kollektiv in Frakturtypen unterscheidet oder nicht.

Die erwartete Assoziation zwischen cFGF-23 und Serumphosphat ($p < 0,001$; $r = 0,422$) bleibt auch nach Berücksichtigung von Alter und Nierenfunktion bestehen ($p < 0,05$; $r =$

0,326). In den Untergruppen ist er aber nur bei pertrochantären Frakturen nachweisbar ($p < 0,05$; $r = 0,371$).

Der Zusammenhang zwischen Sclerostin und 25-OHD bzw. PTH blieb auch unter Berücksichtigung von Alter und Nierenfunktion bestehen (p jeweils $< 0,05$; $r = 0,302$ bzw. $r = -0,244$). Bezüglich des Frakturtyps weisen aber nur noch Schenkelhalsfrakturen die Beziehung auf (p jeweils $< 0,05$; $r = 0,441$ bzw. $r = -0,399$).

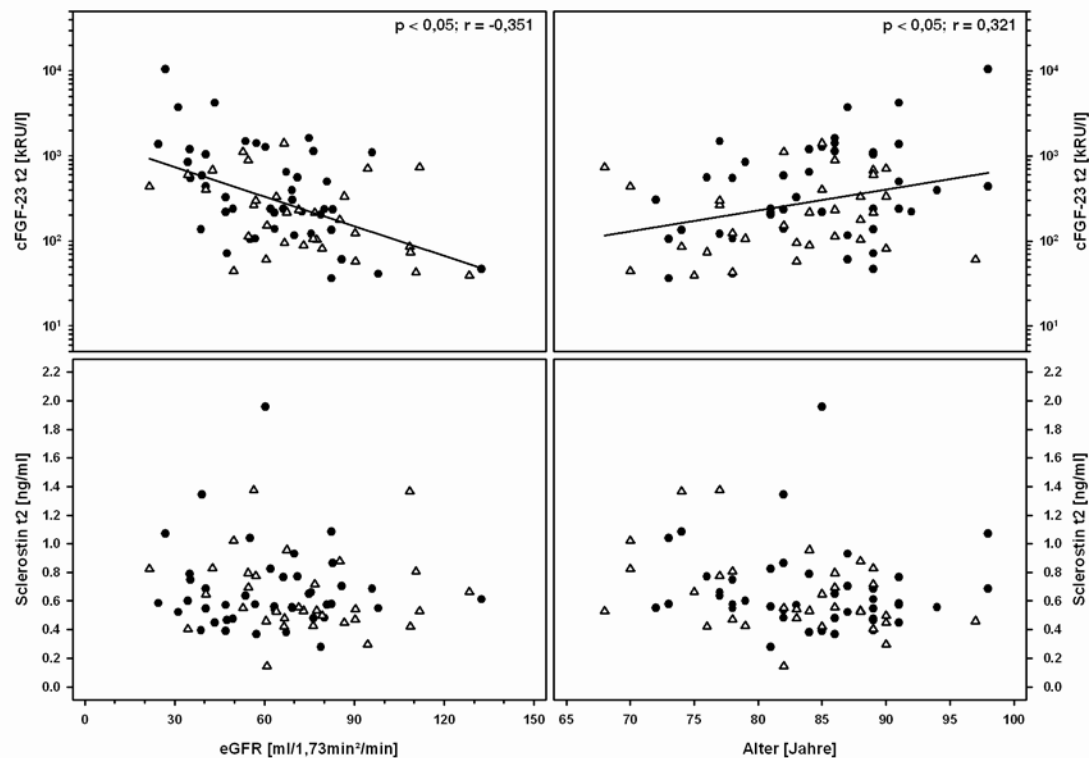


Abb.10: Zusammenhang zwischen Nierenfunktion bzw. Alter und cFGF-23 (obere Reihe) und Sclerostin (untere Reihe).

Δ = Schenkelhalsfrakturen, ● = pertrochantäre Frakturen

5 Diskussion

Das von mir untersuchte Kollektiv weist die typischen Merkmale von Osteoporosepatienten auf. Zu nennen wären das Alter der Patienten, der hohe Anteil von Patientinnen, die hohe Prävalenz von Vitamin-D-Mangel und konsekutivem sekundärem Hyperparathyreoidismus, häufig altersbedingter Niereninsuffizienz verschiedenen Ausmaßes und ein erniedrigter T-Score im Bereich der lumbalen Wirbelsäule bzw. der hüftnahen Femurregion.

Bei nahezu allen Patienten konnten wir einen starken negativen Zusammenhang zwischen eGFR als Ausdruck der Integrität der Nierenfunktion und der systemischen Konzentration von cFGF-23 nachweisen. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen aus anderen Studien, in denen Patienten mit chronischem Nierenversagen auf ihren FGF-23-Spiegel untersucht wurden (Larsson, Nisbeth et al. 2003; Stubbs, Liu et al. 2007; Quarles 2012). Des Weiteren konnten wir die erwarteten Zusammenhänge von cFGF-23, PTH und Vitamin D auch in unserem Kollektiv feststellen.

Um den Einfluss eventuell vorbestehender Unterschiede im Hormonsystem und Knochenaufbau auf die Entstehung unterschiedlicher Frakturmuster zu untersuchen, teilten wir unser Kollektiv in entsprechende Gruppen ein. Weil wir wissen, dass sowohl die renale Funktion als auch die skelettale Integrität im Alter abnehmen, wurden das Alter der Patienten und die berechnete eGFR in die statistische Auswertung einbezogen. Wir versuchten so, mehr über die Beziehung zwischen Knochenmetabolismus, Sclerostin und FGF-23 zu erfahren.

Auffällig war, dass nach dieser Korrektur der Zusammenhang zwischen Vitamin D und Parathormon in beiden Gruppen nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Beide Hormone sind bei Patienten mit Schenkelhalsfrakturen mit Sclerostin korreliert. Bei Patienten mit pertrochantären Frakturen trifft dieses nur für Vitamin D zu. Der menschliche Körper reguliert also, unabhängig von Alter und Nierenfunktion, bei bereits entgleistem systemischem Hormonhaushalt und trotz Traumatisierung die skelettale Homöostase auf Knochenebene.

Ein Zusammenhang zwischen Alter, Nierenfunktion und cFGF-23 zeigte sich nur in der Gruppe der pertrochantären Frakturen. Hier bestand auch nach Korrektur um Alter und eGFR ein Zusammenhang zwischen cFGF-23 und Serumphosphat, sowie zwischen Parathormon und Serumcalcium. cFGF-23 und PTH korrelierten ebenfalls miteinander. All diese Zusammenhänge bestehen bei Patienten mit Schenkelhalsfrakturen nicht.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass bei bestehender Osteoporose der Frakturtyp auf spezifische Störungen im Hormonhaushalt hinweist. Während bei Patienten mit

perthrochantärer Fraktur die physiologischen Regelkreisläufe auf Ebene von Nieren, Nebenschilddrüse und Knochen zur Kontrolle des Mineralhaushaltes funktionieren, sind bei Patienten mit Schenkelhalsfraktur diese Mechanismen eingeschränkt bzw. nicht mehr vorhanden und die Regulation der Mineralhomöostase verlagert sich auf die Ebene des Knochens. In Übereinstimmung mit dieser Hypothese, waren die cFGF-23 Spiegel nach pertrochantärer Fraktur deutlich höher als bei Patienten mit Schenkelhalsfraktur, d.h. bei Patienten mit Schenkelhalsfraktur ist die Reaktion auf den plötzlichen, frakturbedingten Anstieg des Phosphats im Serum nicht mehr ausreichend. Eine kürzlich veröffentlichte, prospektive Studie benennt die Serumkonzentration von FGF-23 als möglichen Prädiktor osteoporotischer Frakturen bei älteren Männern. Auch nach Ausschluss mehrerer möglicher Störfaktoren konnte ein konstanter Zusammenhang zwischen Frakturrisiko und FGF-23-Spiegel nachgewiesen werden. Interessanterweise war die eGFR der Probanden nur marginal mit dem Frakturrisiko assoziiert und nachdem Alter, BMD und FGF-23 in die Auswertung einbezogen wurden, verschwand dieser Zusammenhang sogar völlig. Ordnete man die Patienten danach ob ihre eGFR größer oder kleiner als $71,5 \text{ ml/min/1,73m}^2$ war, konnte ein statistischer Zusammenhang zwischen FGF-23 und Frakturrisiko nur für Patienten mit erhaltener Nierenfunktion bewiesen werden (Kanda, Yoshida et al. 2012). Trotz bestehender Unterschiede hinsichtlich Studiendesign und der verwendeten Assays zum Nachweis von FGF-23 legen diese und unsere Studie nahe, dass die Serumkonzentration von FGF-23 eine aktuelle Aussage über renale und ossäre Gesundheit beim Menschen treffen könnte.

5.1 Grenzen der vorliegenden Arbeit

Leider konnten mit Blick auf einen vertretbaren Zeit- und Arbeitsaufwand nicht mehr Patienten in diese Studie eingeschlossen werden und nicht alle Patienten konnten oder wollten einer DXA-Messung zustimmen. Hierfür war sicherlich auch entscheidend, dass die Patienten von der Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie in die Klinik für Orthopädie gebracht werden müssen. Außerdem wurden nur Patienten, die aufgrund eines akuten Traumas eine chirurgische Intervention erfuhren, in diese Studie aufgenommen. Damit kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob die Dynamik des Konzentrationsanstiegs und anschließenden Abfalls von cFGF-23 und Sclerostin als Folge der Fraktur oder aber der chirurgischen Intervention selbst zu werten sind. Unsere Daten legen nahe, dass Serumkonzentrationsveränderungen dieser Botenstoffe in Folge einer Verletzung des Knochens wesentlich schneller nachweisbar sind, als Änderungen anderer, eher längerfristige Zustände abbildende Parameter (bspw. T-score). Daher könnte es auch so schwierig sein, statistische Beziehungen zwischen diesen

zwei Sorten von Variablen nachzuweisen und man sollte in der Interpretation solcher Zusammenhänge vorsichtig sein. In diesem Sinne wäre es sicherlich vorteilhafter gewesen, zusätzliche Kontrollgruppen mit ähnlicher Alters- und Geschlechtsverteilung mitzuführen. Hier wären sowohl eine Gruppe mit einer qua Narkoseintensität und Dauer vergleichbaren viszeralchirurgischen Operation als auch eine Gruppe mit elektiven orthopädischen Operationen (bspw. Hüft- oder Knieendoprothesen), im Sinne eines „standardisierten Knochentraumas“ zu nennen. Die dann möglichen Gruppenvergleiche sollten es erlauben, zwischen Trauma-/ Narkose-bedingten und skelettalen Ursachen der Konzentrationsänderungen von cFGF-23 und Sclerostin zu differenzieren.

Ein Vergleich der Mikroarchitektur zwischen den Frakturtypen ist in diesem Setting nicht zulässig, da die Trabekelstruktur sich an Schenkelhals und pertrochantärer Region in Folge unterschiedlicher physikalischer Belastung (Biege- bzw. Zugbelastung) grundsätzlich unterscheidet. Dabei wäre die ex-vivo μ -CT-Analyse gesunden menschlichen Knochens aus einer ähnlichen anatomischen Region von Vorteil gewesen und hätte geholfen, die osteoporotisch bedingten Veränderungen des von uns untersuchten Knochens besser zu kontrastieren.

Außerdem wäre eine Messung der Knochendichte mit in vivo HRpQCT (high resolution peripheral quantitative computed tomography) statt DXA vielleicht besser mit den von uns durchgeführten ex-vivo-Bestimmungen vergleichbar gewesen. Allerdings verfügt unser Institut über kein solches Gerät und selbst wenn es verfügbar gewesen wäre, ist damit nur die Untersuchung an distaler Tibia und/oder Radius möglich. Ein direkter Vergleich der ex-vivo bestimmten Mikroarchitektur des frakturierten Knochens mit der Gegenseite in-vivo wäre auch mit einem HRpQCT nicht möglich.

Zusammenfassend konnte in unserer Studie gezeigt werden, dass außer Alter und Nierenfunktion auch eine Verletzung des Skeletts Einfluss auf den Serumspiegel von cFGF-23 und Sclerostin im menschlichen Körper hat. Außerdem haben wir Grund zur Annahme, dass vom Frakturtyp Rückschlüsse auf die Integrität von Knochen- und Hormonhaushalt gezogen werden können.

6 Zusammenfassung

Die WHO definiert Osteoporose als eine „systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine mikroarchitektonische Verschlechterung des Knochengewebes mit konsekutivem Anstieg der Knochenfragilität und der Neigung zu Frakturen charakterisiert ist“. So klar diese Definition auch erscheint, so schwierig ist es, die Knochenqualität und ihre Veränderungen zu erfassen. Als Surrogatmarker dient die Mineraldichte des Knochens (Bone Mineral Density, BMD), die sich durch DXA-Untersuchung an Lendenwirbelsäule und / oder Schenkelhals bestimmen lässt. Allerdings ändert sich die BMD nur langsam, so dass DXA-Messungen nur in großen zeitlichen Abständen aussagekräftig sind. Vor diesem Hintergrund steigt das Interesse an biochemischen Parametern, die Informationen über die skelettale Aktivität enthalten. Hier sind neben den für Knochenaufbau und -abbau typischen Kollagenfragmenten, der alkalischen Phosphatase und der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase auch Sclerostin und FGF-23 zu nennen. Die beiden letzt genannten Proteine werden von Osteoblasten / Osteozyten sezerniert und sind möglicherweise für die Beurteilung des Knochenstoffwechsels geeignet. Weiterhin muss beachtet werden, dass Knochenstoffwechsel und Mineralhomöostase nicht unabhängig voneinander sind, sondern sowohl auf der Ebene der Nierenfunktion als auch durch hormonelle Regelkreise miteinander verbunden sind („Knochen-Nieren-Nebenschilddrüse-Achse“). Mit zunehmendem Alter steigt das Risiko für eine Osteoporose, gleichzeitig lässt die Nierenfunktion nach und es wird zu entsprechenden Adaptionen der oben genannten Regelkreise kommen.

In der vorliegenden Arbeit haben wir untersucht, welche Zusammenhänge zwischen der Mikroarchitektur des osteoporotischen Knochens und den zirkulierenden Konzentrationen von Sclerostin und cFGF-23, zwei „neuen“ Markern des Knochenstoffwechsels, bestehen. Dazu wurden im Rahmen einer prospektiven Studie Patienten (> 65 Jahre) mit osteoporotischer Fraktur untersucht. Patienten mit bekannter schwerer Einschränkung der Nierenfunktion, maligner Grunderkrankung und sekundärer Osteoporose wurden ausgeschlossen. Die Patienten (n=82; 61 / 21 Frauen / Männer) wurden nach Art der Fraktur (perthrochantäre Fraktur, n=49; Schenkelhalsfraktur, n=33) kategorisiert und die während der chirurgischen Versorgung gewonnenen Knochenproben ex vivo mit einem μ CT untersucht. Parallel dazu wurden Blutproben am Tag der Krankenhauseinlieferung (vor OP) sowie am 1. und 5. postoperativen Tag gewonnen. In diesen Proben wurden neben einer leitliniengerechten Diagnostik auch die Konzentrationen von cFGF-23 und Sclerostin bestimmt.

Ein signifikanter Anteil der Patienten (51 / 17 Frauen / Männer) fiel durch einen deutlichen Vitamin D Mangel auf und in etlichen Fällen (29 / 8 Frauen / Männer) war es bereits zur Ausbildung eines konsekutiven sekundären Hyperparathyreoidismus gekommen.

53 Patienten waren mit der Bestimmung der aBMD (DXA-Untersuchung) einverstanden und bei 46 dieser Patienten war auch die Untersuchung des kontralateralen Schenkelhalses möglich. Um Artefakte durch degenerative Sinterung der Wirbelkörper zu minimieren, haben wir nur den am Schenkelhals bestimmten T-Score für die Auswertung berücksichtigt. Der T-Score entsprach in 33 Fällen einer Osteoporose und in 10 Fällen einer Osteopenie.

Wir konnten die erwarteten Zusammenhänge zwischen Alter, Nierenfunktion (ausgedrückt als Kreatininclearance) und cFGF-23 bestätigen. Weiterhin kommt es im postoperativen Verlauf und ungeachtet der Lokalisation der Fraktur zunächst zu einem Anstieg und später zu einem Abfall der Konzentrationen von cFGF-23 auf das Ausgangsniveau.

Bei Sclerostin sind diese Veränderungen ähnlich zu beobachten. Während der Sclerostinspiegel am 1. postoperativen Tag nur geringfügig über den Ausgangswerten liegt, werden am 5. postoperativen Tag und im Einklang mit der Rolle von Sclerostin als Inhibitor der Knochenbildung deutlich niedrigere Spiegel gemessen.

Patienten mit pertrochantärer Fraktur und Schenkelhalsfraktur unterscheiden sich mit Blick auf anthropometrische Charakteristika, Nierenfunktion und die Frakturbedingten Veränderungen der cFGF-23- und Sclerostinspiegel nicht. Allerdings ist unter Berücksichtigung des Alters und ggf. auch der Nierenfunktion der bei Patienten mit pertrochantärer Fraktur zu beobachtende Zusammenhang zwischen cFGF-23 und Nierenfunktion bzw. cFGF-23 und Serumphosphat bei Patienten mit Schenkelhalsfraktur nicht nachzuweisen. In dieser Gruppe ist auch der Zusammenhang zwischen PTH und cFGF-23 aufgehoben. Daher postulieren wir, dass zwischen Frakturtyp und Integrität des Knochen- und Hormonhaushaltes ein Zusammenhang besteht.

7 Literaturverzeichnis

- Allen, MR, Hock, JM and Burr, DB (2004). "Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies." Bone**35**(5): 1003-12.
- Baron, R and Kneissel, M (2013). "WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments." Nat Med**19**(2): 179-92.
- Bellido, T (2006). "Downregulation of SOST/sclerostin by PTH: a novel mechanism of hormonal control of bone formation mediated by osteocytes." J Musculoskelet Neuronal Interact**6**(4): 358-9.
- Ben-Dov, IZ, Galitzer, H, Lavi-Moshayoff, V, Goetz, R, Kuro-o, M, Mohammadi, M, Sirkis, R, Naveh-Manly, T and Silver, J (2007). "The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats." J Clin Invest**117**(12): 4003-8.
- Bleibler, F, Benzinger, P, Lehnert, T, Becker, C and Konig, HH (2014). "Cost of fractures in German hospitals--what role does osteoporosis play?" Gesundheitswesen**76**(3): 163-8.
- Bleibler, F, Konnopka, A, Benzinger, P, Rapp, K and Konig, HH (2013). "The health burden and costs of incident fractures attributable to osteoporosis from 2010 to 2050 in Germany--a demographic simulation model." Osteoporos Int**24**(3): 835-47.
- Bogunovic, L, Kim, AD, Beamer, BS, Nguyen, J and Lane, JM (2010). "Hypovitaminosis D in patients scheduled to undergo orthopaedic surgery: a single-center analysis." J Bone Joint Surg Am**92**(13): 2300-4.
- Dusso, AS and Rodriguez, M (2012). "Enhanced induction of Cyp24a1 by FGF23 but low serum 24,25-dihydroxyvitamin D in CKD: implications for therapy." Kidney Int**82**(10): 1046-9.
- DVO (2011). "DVO Guideline 2009 for prevention, diagnosis and therapy of osteoporosis in adults." Osteologie**20**: 55-74.
- Emmett, M (2008). "What does serum fibroblast growth factor 23 do in hemodialysis patients?" Kidney Int**73**(1): 3-5.
- Gattineni, J, Bates, C, Twombly, K, Dwarakanath, V, Robinson, ML, Goetz, R, Mohammadi, M and Baum, M (2009). "FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1." Am J Physiol Renal Physiol**297**(2): F282-91.
- Gutierrez, O, Isakova, T, Rhee, E, Shah, A, Holmes, J, Collierone, G, Juppner, H and Wolf, M (2005). "Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease." J Am Soc Nephrol**16**(7): 2205-15.
- Hadji, P, Klein, S, Haussler, B, Kless, T, Linder, R, Rowinski-Jablockow, M, Verheyen, F and Gothe, H (2013). "The bone evaluation study (BEST): patient care and persistence to treatment of osteoporosis in Germany." Int J Clin Pharmacol Ther**51**(11): 868-72.
- Ho, JT, Wu, J, Huang, HL, Chen, MY, Fuh, LJ and Hsu, JT (2013). "Trabecular bone structural parameters evaluated using dental cone-beam computed tomography: cellular synthetic bones." Biomed Eng Online**12**: 115.
- Isakova, T, Wahl, P, Vargas, GS, Gutierrez, OM, Scialla, J, Xie, H, Appleby, D, Nessel, L, Bellovich, K, Chen, J, Hamm, L, Gadegbeku, C, Horwitz, E, Townsend, RR, Anderson, CA, Lash, JP, Hsu, CY, Leonard, MB and Wolf, M (2011). "Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease." Kidney Int**79**(12): 1370-8.
- Kanda, E, Yoshida, M and Sasaki, S (2012). "Applicability of fibroblast growth factor 23 for evaluation of risk of vertebral fracture and chronic kidney disease-mineral bone disease in elderly chronic kidney disease patients." BMC Nephrol**13**: 122.
- Kawata, T, Imanishi, Y, Kobayashi, K, Miki, T, Arnold, A, Inaba, M and Nishizawa, Y (2007). "Parathyroid hormone regulates fibroblast growth factor-23 in a mouse model of primary hyperparathyroidism." J Am Soc Nephrol**18**(10): 2683-8.
- Keller, H and Kneissel, M (2005). "SOST is a target gene for PTH in bone." Bone**37**(2): 148-58.

- Kovesdy, CP (2014). "Do FGF23 levels change over time and if yes, what do such changes mean?" Nephrol Dial Transplant**29**(1): 12-4.
- Krajisnik, T, Bjorklund, P, Marsell, R, Ljunggren, O, Akerstrom, G, Jonsson, KB, Westin, G and Larsson, TE (2007). "Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1 α -hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells." J Endocrinol**195**(1): 125-31.
- Larsson, T, Nisbeth, U, Ljunggren, O, Juppner, H and Jonsson, KB (2003). "Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers." Kidney Int**64**(6): 2272-9.
- Lee, M and Partridge, NC (2009). "Parathyroid hormone signaling in bone and kidney." Curr Opin Nephrol Hypertens**18**(4): 298-302.
- Levey, AS, Bosch, JP, Lewis, JB, Greene, T, Rogers, N and Roth, D (1999). "A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group." Ann Intern Med**130**(6): 461-70.
- Li, SA, Watanabe, M, Yamada, H, Nagai, A, Kinuta, M and Takei, K (2004). "Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney, and reproductive organs of mice." Cell Struct Funct**29**(4): 91-9.
- Li, X, Zhang, Y, Kang, H, Liu, W, Liu, P, Zhang, J, Harris, SE and Wu, D (2005). "Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling." J Biol Chem**280**(20): 19883-7.
- Lin, C, Jiang, X, Dai, Z, Guo, X, Weng, T, Wang, J, Li, Y, Feng, G, Gao, X and He, L (2009). "Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling." J Bone Miner Res**24**(10): 1651-61.
- Liu, S and Quarles, LD (2007). "How fibroblast growth factor 23 works." J Am Soc Nephrol**18**(6): 1637-47.
- Liu, S, Tang, W, Zhou, J, Stubbs, JR, Luo, Q, Pi, M and Quarles, LD (2006). "Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D." J Am Soc Nephrol**17**(5): 1305-15.
- Lüllmann-Rauch, R (2015). Taschenlehrbuch Histologie, Thieme.
- Martin, A, David, V and Quarles, LD (2012). "Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways." Physiol Rev**92**(1): 131-55.
- Moe, SM, Drüeke, TB, Block, GA, Cannata-Andía, JB, Elder, GJ, Fukagawa, M, Jorgetti, V, Ketteler, M, Langman, CB, Levin, A, MacLeod, AM, McCann, L, McCullough, PA, Ott, SM, Wang, AY, Weisinger, JR, Wheeler, DC, Persson, R, Earley, A, Moorthi, R and Uhlig, K (2009). "KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD)." Kidney Int Suppl(113): S1-130.
- Moester, MJ, Papapoulos, SE, Lowik, CW and van Bezooijen, RL (2010). "Sclerostin: current knowledge and future perspectives." Calcif Tissue Int**87**(2): 99-107.
- N.N. (1993). "Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis." Am J Med**94**(6): 646-50.
- N.N. (1994). "Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group." World Health Organ Tech Rep Ser**843**: 1-129.
- Poole, KE, van Bezooijen, RL, Loveridge, N, Hamersma, H, Papapoulos, SE, Lowik, CW and Reeve, J (2005). "Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation." FASEB J**19**(13): 1842-4.
- Powers, CJ, McLeskey, SW and Wellstein, A (2000). "Fibroblast growth factors, their receptors and signaling." Endocr Relat Cancer**7**(3): 165-97.

- Quarles, LD (2011). "The bone and beyond: 'Dem bones' are made for more than walking." Nat Med**17**(4): 428-30.
- Quarles, LD (2012). "Role of FGF23 in vitamin D and phosphate metabolism: implications in chronic kidney disease." Exp Cell Res**318**(9): 1040-8.
- Razzaque, MS (2009). "The FGF23-Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis." Nat Rev Endocrinol**5**(11): 611-9.
- Robinson, JA, Chatterjee-Kishore, M, Yaworsky, PJ, Cullen, DM, Zhao, W, Li, C, Kharode, Y, Sauter, L, Babij, P, Brown, EL, Hill, AA, Akhter, MP, Johnson, ML, Recker, RR, Komm, BS and Bex, FJ (2006). "Wnt/beta-catenin signaling is a normal physiological response to mechanical loading in bone." J Biol Chem**281**(42): 31720-8.
- Robling, AG, Niziolek, PJ, Baldridge, LA, Condon, KW, Allen, MR, Alam, I, Mantila, SM, Gluhak-Heinrich, J, Bellido, TM, Harris, SE and Turner, CH (2008). "Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin." J Biol Chem**283**(9): 5866-75.
- Saji, F, Shigematsu, T, Sakaguchi, T, Ohya, M, Orita, H, Maeda, Y, Ooura, M, Mima, T and Negi, S (2010). "Fibroblast growth factor 23 production in bone is directly regulated by 1{alpha},25-dihydroxyvitamin D, but not PTH." Am J Physiol Renal Physiol**299**(5): F1212-7.
- Seeman, E (2013). "Age- and menopause-related bone loss compromise cortical and trabecular microstructure." J Gerontol A Biol Sci Med Sci**68**(10): 1218-25.
- Squier, CA, Ghoneim, S and Kremenak, CR (1990). "Ultrastructure of the periosteum from membrane bone." J Anat**171**: 233-9.
- Stubbs, J, Liu, S and Quarles, LD (2007). "Role of fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and pathogenesis of disordered mineral metabolism in chronic kidney disease." Semin Dial**20**(4): 302-8.
- Techawiboonwong, A, Song, HK, Leonard, MB and Wehrli, FW (2008). "Cortical bone water: in vivo quantification with ultrashort echo-time MR imaging." Radiology**248**(3): 824-33.
- van Bezooijen, RL, Roelen, BA, Visser, A, van der Wee-Pals, L, de Wilt, E, Karperien, M, Hamersma, H, Papapoulos, SE, ten Dijke, P and Lowik, CW (2004). "Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist." J Exp Med**199**(6): 805-14.
- van Bezooijen, RL, ten Dijke, P, Papapoulos, SE and Lowik, CW (2005). "SOST/sclerostin, an osteocyte-derived negative regulator of bone formation." Cytokine Growth Factor Rev**16**(3): 319-27.
- Weber, TJ, Liu, S, Indridason, OS and Quarles, LD (2003). "Serum FGF23 levels in normal and disordered phosphorus homeostasis." J Bone Miner Res**18**(7): 1227-34.

8 Thesen

1. Osteoporose ist eine Erkrankung des höheren Lebensalters und betrifft bevorzugt Frauen.
2. Die osteoporotische Fraktur ist mit einer hohen Morbidität und Mortalität behaftet.
3. Die Nierenfunktion nimmt mit zunehmendem Alter ab und der Vitamin-D Mangel zu.
4. Knochen- und Nierenfunktion sind durch hormonelle Regelkreise miteinander verbunden und beeinflussen sich gegenseitig.
5. Bei Patienten mit Schenkelhalsfraktur ist die Knochen-Nieren-Nebenschilddrüsen-Achse gestört und der Zusammenhang zwischen PTH und cFGF-23 aufgehoben.
6. Die DXA-Messung an der Lendenwirbelsäule ist bei Patienten mit degenerativer Wirbelkörpersinterung für die Bestimmung der Knochendichte ungeeignet.
7. Patienten mit pertrochantärer Fraktur und Schenkelhalsfraktur unterscheiden sich mit Blick auf anthropometrische Charakteristika, Nierenfunktion und die frakturbedingten Veränderungen der cFGF-23- und Sclerostinspiegel nicht.
8. Unter Berücksichtigung des Alters und ggf. auch der Nierenfunktion ist der bei Patienten mit pertrochantärer Fraktur zu beobachtende Zusammenhang zwischen cFGF-23 und Nierenfunktion bzw. cFGF-23 und Serumphosphat bei Patienten mit Schenkelhalsfraktur nicht nachzuweisen.
9. Zwischen Frakturtyp und Integrität des Knochen- und Hormonhaushaltes besteht vermutlich ein (noch ungeklärter) Zusammenhang.

9 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. T. Mittlmeier und Dr. med. P. Herlyn danke ich für die Überlassung des interessanten Themas und die intensive Betreuung während der Rekrutierung der Probanden und Datenerhebung.

Bei Frau PD Dr. rer.-nat. D.-C. Fischer möchte ich mich für die stete Unterstützung, unermüdliche Hilfsbereitschaft und intensive Betreuung, das stets offene Ohr für alle erdenklichen Probleme und die äußerst freundschaftliche Zusammenarbeit bedanken.

Ich bedanke mich bei Anja Rahn, Birgit Salewski und Claudia Winkelmann für die gute Zusammenarbeit im Labor und für viele lustige gemeinsame Momente. Auch allen anderen Doktoranden der Arbeitsgruppe danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Bei allen Probanden, die freiwillig an den Studienuntersuchungen teilgenommen haben, bedanke ich mich dafür, dass sie diese Arbeit möglich gemacht haben.

Mein besonderer Dank gilt meiner Mutter und meinem Stiefvater, die mich nicht nur bei der Arbeit an dieser Promotionsarbeit, sondern auch bei meinem Studium und bei allen anderen beruflichen und privaten Vorhaben sowohl finanziell als auch emotional unterstützt haben, immer für mich da waren und mich in meinen Zielen bestärkt haben.

Meinem Großvater bin ich für die Idee, Medizin zu studieren und Arzt zu werden, zu Dank verpflichtet.

Nicht zuletzt danke ich meinem Freund Dr. med. Sebastian Hesse, mit dem alles begann.

11 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, diese Dissertation selbstständig, ohne fremde Hilfe und nur unter Nutzung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt zu haben.

Ich habe weder diese noch eine andere Arbeit zuvor als Dissertation an einer Hochschule eingereicht.

Rostock, 17.09.2016